N° 454

THESE

présentée

A L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

pour obtenir

le GRADE de DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

par

Françoise LATTES

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES EFFETS DU CALCAIRE SUR LE METABOLISME DES VEGETAUX

Soutenue le **13 novembre** 1971, devant la Commission d'examen

MM. C. LEREDDE — Président

Examinateurs :

G. LASCOMBES

J. CARLES

P. CHOUARD
Professeur à la Faculté des Sciences de Paris

G. DURAND

N° 454

THESE

présentée

A L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

pour obtenir

le GRADE de DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

par

Françoise LATTES

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES EFFETS DU CALCAIRE SUR LE METABOLISME DES VEGETAUX

Soutenue le **13 novembre** 1971, devant la Commission d'examen

MM. C. LEREDDE — Président

G. LASCOMBES
J. CARLES
P. CHOUARD
Professeur à la Faculté des Sciences de Paris
G. DURAND

— Examinateurs

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNIVERSITE PAUL SABATIER DE TOULOUSE

TABLEAU DU PERSONNEL

SCIENCES

DIRECTION DE L'UNIVERSITE

M. LARENG	Président de l'Université	M. MARTIN	2ème Vice-Président
M. MATHIS	1er Vice-Président		

HONORARIAT

M. BLAIZOT	Doyen honoraire	M. DUPOUY	Membre de l'Institut, Doyen honoraire, Directeur General honoraire du C.N.R.S., Professeur honoraire
M. CAPDECOMME	Doyen honoraire, Recteur honoraire		
M. DELTHEIL	Doyen honoraire, Recteur honoraire, Professeur honoraire	M. DURAND	Doyen honoraire
M. FOUCHE	Professeur honoraire	M. MORQUIER	Professeur honoraire, Correspondant de l'Institut
M. GAUSSENS	Professeur honoraire, Correspondant de l'Institut	M. SECONDAT	Professeur honoraire
M. JACQUES	Professeur honoraire	M. TEISSIE-SOLIER	Professeur honoraire
M. MIGNONAC	Professeur honoraire	M. VANDEL	Professeur honoraire, Membre de l'Institut

PROFESSEURS

M. ESCANDE	Mécanique des Fluides, Membre de l'Institut	M. LALAGUE	Mathématiques Generales
M. CASTERAS	Géologie, Correspondant de l'Institut	M. DESSENS	Physique du Globe, Correspondant de l'Institut
M. BEDOS	Chimie	M. BOUIGUE	Astronomie
M. CAPDECOMME	Minéralogie	M. COUCHET	Physique
M. DUPIN	Radioélectricité	M. LEJEUNE	Chimie
M. NOUVEL	Biologie Générale	M. LASCOMBES	Botanique
M. GALLAIS	Chimie, Correspondant de l'Institut	M. ASSELINEAU	Chimie Biologique
M. DURAND	Physique	M. MAURET	Chimie Systématique
M. FERT	Physique	M. AGID	Physiologie
M. DIEHL	Agronomie	M. MONTANT	Cryptogamie
M. LESBRE	Chimie Organique	M. GAUTIER	Physique
M. BRUNEL	Physiologie Végétale	M. CRUMEYROLLE	Mathématiques
M. HURON	Mathématiques Appliquées	M. GOURINARD	Géologie
M. MARGULIS	Pédologie	M. PULOU	Mineralogie
M. TRICHE	Chimie Analytique et Spectrographie	M. CAMBOU	Physique Spatiale
M. LEDOUX	Zoologie Appliquée	M. MIQUEL	Chimie
M. RIVALS	Agriculture	M. LACOSTE	Electrotechnique
M. PERRIER	Physique	M. THIBAULT	Mécanique Rationnelle et Appliquee
M. MATHIS	Chimie	M. MONTEL	Chimie Physique et Electrochimie
M. ORLIAC	Géochimie et Minéralogie	M. MASCART	Mathématiques
M. LAFOURCADE	Physique	M. MEDIONI	Psychophysiologie
M. ANGELIER	Zoologie	M. THIRRIOT	Hydrodynamique E N S E I H T
Mlle de FERRE	Botanique	M. BRENON	Geologie
M. FARRAN	Minéralogie et Géotechnique	M. LAFON	Calcul Différentiel et Integral
M. LAUDET	Physique Théorique et Calcul Numérique	M. RAYNAUD P	Physiologie Animale
M. SERFATY	Biologie Animale	M. ZALTA	Chimie Biologique
M. NOUGARO	Hydraulique Générale et Appliquee	M. SEVELY	Electrotechnique
M. LAGASSE	Electrotechnique	M. POMMIEZ	Mathématiques
M. GARDY	Génie Chimique	M. REY	Biologie Végetale
M. BLANC	Physique Nucléaire	M. COULOMB	Physique
M. BIREBENT	Electronique Appliquée	M. TRINQUIER	Physique
M. VOIGT	Chimie Minérale	M. MARONI	Chimie
M. LEREDDE	Botanique	M. BEETSCHEN	Biologie Générale
M. LELUBRE	Géologie	M. GRUAT	Mécanique des Fluides (Hydraulique)
M. TROCHAIN	Botanique	M. DERACHE	Physiologie Animale
M. MASDUPUY	Chimie		

PROFESSEURS ASSOCIES

M. MANSOUR	M. PARKS
M. SAKUMA	

PROFESSEURS SANS CHAIRE

M. HAMANT	Botanique
Mme BRUNEL	Physiologie Végétale
Mlle BERDUCOU	Physiologie Végétale
M. PICCA	Physique
M. MERIC	Mathématiques Appliquées
Mme LECAL	Zoologie
M. BUGAREL	Génie Chimique
M. MIROUSE	Géologie
M. PILOD	Physique
M. LARROQUE	Physique
M. BARRANS	Chimie
Mme LAFON	Mathématiques
Mlle LAPEYRE	Mathématiques - Informatique
M. DAT	Mécanique des Fluides
M. JEANNIN	Chimie Minérale
M. BERTRAND	Chimie
M. SATGE	Chimie Organique
M. DESQ	Mathématiques
M. MAHENC	Chimie
M. LATTES	Chimie
M. ROCARD	Electronique
M. DEGEILH	Physique
M. FALLOT	Biologie Végétale (Viticulture et Arboriculture)
M. POILBLANC	Chimie
M. TOUZE	Physiologie Végétale
M. FRASNAY	Mathématiques
M. CASSAGNAU	Zoologie
M. GUERIN	Mathématiques

MAITRES DE CONFERENCES

M. BLANCHARD	Mathématiques
M. HOFFMANN	Electronique
M. BITSCH	Zoologie
M. FONTAN	Physique Nucléaire
M. PESCIA	Physique
M. SICARD	Biologie Génétique
M. CAUSSINUS	Mathématiques Appliquées
M. de LOTH	Chimie Physique
M. MARTY	Physique Industrielle
M. BAUDRAS	Chimie Biologique
M. DURAND Ph.	Physique
M. LEFEUVRE	Electronique E.N.S.E.I.H.T.
M. SOUQUET	Géologie
M. SAPORTE	Physique
M. ATTEIA	Mathématiques
M. ENJALBERT	Chimie
M. IMBERT	Psychophysiologie
M. SCHNEIDER	Biologie Cellulaire
M. ANGELINO	Génie Chimique
M. MARTIN	Génie Electrique
M. THENOZ	Génie Civil
M. DABOSI	E.N.S.C.
M. CALVET	Mécanique des Fluides (E.N.S.E.I.H.T.)
M. PAGANI	Physique
M. CUPPENS	Mathématiques
M. PERENNOU	Informatique
M. REY	Génie Electrique
M. MATHIEU	Chimie Analytique
M. TRANNOY	Physique (E.N.S.E.I.H.T.)
M. CASTAGNETTO	Mathématiques (E.N.S.E.I.H.T.)
M. CASTAN	Informatique
M. GILOT	Génie Chimique (Institut du Génie Chimique)
M. LANTELME	Chimie Industrielle
M. CALMON	Techniques Agricoles
M. TRUCHASSON	Mécanique
Mlle BARBANCE	Mathématiques
M. VERDIER	Physique
M. GILLY	Génie Mécanique
M. VEDRENNE	Mesures Physiques

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

M. PUN

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

M. BEAUFILS	Informatique
M. DARROZES	Mécanique
M. PRADINES	Mathématiques
M. BARTHET	Mathématiques

PERSONNEL DE L'UNIVERSITE AFFECTE A L'INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES APPLIQUEES DE TOULOUSE

PROFESSEURS

M. ROQUES	Chimie Industrielle
M. GRATELOUP	Génie Electrique
M. MASO	Génie Civil

PROFESSEURS SANS CHAIRE

M. CASSIGNOL	Génie Electrique
M. COLLETTE	Physique

MAITRES DE CONFERENCES

M. FAGET	Physique
M. SCHUTTLER	Physique
M. MIRA	Génie Electrique
M. LETURCQ	Génie Electrique
M. SIRIEYS	Génie Civil
M. DURAND G.	Chimie
M. CARRARA	Physique

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

M. BROUSSEAU	Physique
M. LACAZE	Mathématiques

ADMINISTRATION

M. PRINEAU	Secrétaire Général de l'Université

Mes premiers pas en recherches ont été guidés par Monsieur le Professeur Jean PAVILLARD. C'est à sa mémoire que je dédie cette thèse.

Ce travail a été réalisé dans le Laboratoire de Physiologie Végétale que dirige le R.P. J. CARLES, Directeur de Recherches au CNRS. Au cours des quelques années pendant lesquelles j'ai travaillé sous sa direction, j'ai pu apprécier ses qualités scientifiques et humaines. Je suis heureuse de pouvoir lui témoigner ici toute ma reconnaissance et l'assurer de mon profond attachement.

Monsieur le Professeur CHOUARD a bien voulu s'intéresser à mon travail. Je lui suis très reconnaissante de la sollicitude qu'il m'a toujours prodiguée et le remercie vivement d'avoir accepté de siéger au jury malgré les nombreuses charges qui sont les siennes.

Monsieur le Professeur LEREDDE m'a accueillie et conseillée au moment délicat du choix de mon orientation. Je n'oublierai jamais la gentillesse de son accueil ni la valeur de ses conseils. Je suis très touchée qu'il ait accepté de présider le jury.

J'exprime toute ma gratitude à Monsieur le Professeur LASCOMBES pour l'intérêt qu'il a porté à mes recherches. Je le prie de recevoir mes remerciements les plus respectueux.

Je remercie Monsieur le Professeur DURAND d'avoir accepté d'examiner ce travail. Je lui en suis très reconnaissante.

Il m'est tout particulièrement agréable de remercier ici, mon beau-frère, le Professeur GAYREL. Ses critiques et ses conseils m'ont été fort utiles pour la rédaction de ce mémoire.

Je ne saurais enfin oublier tous les amis qui m'ont aidée dans la réalisation de ce travail.

A la Mémoire de ma Mère

A mes Parents

A mon Mari

A Jean Michel et Bernard

P L A N

- Introduction - Données bibliographiques

- Travaux personnels :

- PREMIERE PARTIE -

LES EFFETS DU CALCAIRE SUR LES VEGETAUX

CHAPITRE I - Matériel et Méthodes

A - Matériel

B - Techniques analytiques

C - Expression des résultats

CHAPITRE II - Les effets du calcaire sur les composants minéraux de la plante

A - Analyse du sol calcaire et du sol non calcaire

B - Les principaux cations de la plante

C - Les oligo-éléments

CHAPITRE III - Les effets du calcaire sur l'acidité organique

A - L'acidité organique totale

B - Les divers acides organiques

Conclusions de la première partie.

- DEUXIEME PARTIE -

LES EFFETS DU CO_3Ca SUR LA PHYSIOLOGIE D'UNE PLANTE CALCIFUGE : LUPINUS ALBUS

CHAPITRE I - Matériel et Méthodes

A - Matériel

B - Techniques analytiques

CHAPITRE II - Les effets du CO_3Ca sur le développement du Lupin

A - Développement normal du Lupin

B - Influence du CO_3Ca sur l'état hydrique du Lupin

C - Action du CO_3Ca sur le développement du Lupin

CHAPITRE III - Les effets d'un sol calcaire sur l'évolution de la composition minérale du Lupin

A - La teneur globale K + Ca + Mg

B - Le calcium

C - Le cuivre

CHAPITRE IV - Les effets d'un sol calcaire sur les chlorophylles et sur les glucides solubles du Lupin

A - Les chlorophylles

B - Les glucides solubles

CHAPITRE V - Les effets d'un sol calcaire sur le métabolisme intermédiaire du Lupin

A - L'acidité organique totale

B - Les rapports acides organiques / cations minéraux

C - Les divers acides organiques

D - Les acides aminés libres

Discussions et Conclusions de la deuxième partie

Conclusions générales.

INTRODUCTION ET DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

Les caractères physico-chimiques du sol influent sur la répartition de nombreuses espèces végétales. Dans la nature, certaines plantes vivent uniquement sur des sols silicieux dont la teneur en calcaire actif est faible. Elles sont dites calcifuges. Cultivés sur terrain calcaire ces végétaux présentent des troubles physiologiques que l'on appelle "la chlorose calcaire". D'autres, au contraire : les calcicoles se rencontrent surtout dans des terrains calciques. Elles s'adaptent parfaitement à des taux élevés de calcium mais n'en ont pas nécessairement besoin. Il est enfin des plantes qui paraissent indifférentes à la nature du milieu et se rencontrent fréquemment sur les deux sortes de terrains.

Ainsi, le regroupement des végétaux en flores "calcicole" "calcifuge" ou "indifférente" est lié au degré de sensibilité des espèces à l'égard du calcaire actif présent dans le milieu. Il a suscité déjà de nombreuses études concernant le déterminisme du comportement écologique de ces diverses plantes, les causes de la chlorose calcaire et les répercussions que cette maladie entraine sur la physiologie des plantes calcifuges.

Parmi ces diverses recherches, les incidences du calcaire sur la nutrition minérale des végétaux ont évidemment une importance particulière. D'autre part, il est actuellement bien connu que l'entrée des sels minéraux dans la plante est en partie tributaire de l'énergie produite par son métabolisme et que leur accumulation est couplée à la synthèse des anions organiques.

C'est pourquoi, nous analyserons tout d'abord les travaux relatifs à la nutrition minérale et au métabolisme des acides organiques des plantes calcicoles et des plantes calcifuges. Nous envisagerons ensuite les données acquises concernant la chlorose calcaire des plantes calcifuges.

I - RECHERCHES RELATIVES AUX DIFFERENCES FONDAMENTALES CONCERNANT LA NUTRITION MINERALE DES PLANTES CALCIFUGES ET DES PLANTES CALCICOLES

D'une façon générale, le contenu global en cations d'une plante est considéré comme une constante génotypique peu influencée par le substrat nutritif BEAR F.E.,(1950); VENEMA K.C.W.,(1952); BLANC D.,(1962); CROOKE W.M. et coll.(1962). Ce contenu est élevé chez certaines espèces, faible chez d'autres HEWITT E.J., (1963) mais il ne semble pas constituer un caractère distinctif entre les espèces calcicoles et calcifuges PASSAMA L., (1970).

Par contre, il ressort des travaux de RORISON I.H., (1960) : CLYMO R.S. (1962) : BROWN J.C., (1963) SALSAC L., (1969-1970) WACQUANT J.P., (1969) que dans des conditions nutritives définies, une absorption minérale sélective différencie ces deux groupements phyto-écologiques. Serait-il alors possible de distinguer ces deux flores par leur composition minérale ? DUVIGNEAUD P., et coll. (1962) PASSAMA L., (1970) constatent en effet que les teneurs en Ca et en Mg sont proportionnellement plus élevées chez les calcicoles que chez les calcifuges tandis que les teneurs en K et Na sont proportionnellement plus fortes chez les calcifuges que les calcicoles. Ces mêmes plantes cultivées en serre avec des solutions salines équilibrées faiblement concentrées et non chlorosantes, présentent une ségrégation identique en ce qui concerne leur composition minérale. Toutefois cette constatation reste limitée aux espèces riches en sels. L'analyse minérale seule n'est donc pas suffisante pour caractériser l'ensemble des plantes calcicoles ou calcifuges.

Les mécanismes qui régissent l'absorption des minéraux par les végétaux ont évidemment retenu l'attention de nombreux chercheurs.

Il est actuellement admis que la pénétration des cations dans la racine résulte d'une première série de phénomènes purement physiques d'échanges ioniques au niveau de la membrane. Pour la plupart des cations cette première phase (l'adsorption) est suivie ensuite de phénomènes métaboliques faisant intervenir des transporteurs et une certaine énergie liée au métabolisme cellulaire.

Les phénomènes d'échanges ioniques :

L'adsorption est directement liée à la nature de la membrane cellulaire et à sa capacité d'échange cationique racinaire (C.E.C.R.) MATTSON S., (1948) CROOKE W.M. et coll. (1962). Plusieurs physiologistes ont cherché à relier cette propriété des racines au comportement écologique de la plante. GALET P., (1947) BLANC AICARD D., et coll. (1955) établirent une relation entre la

capacité de saturation en calcium des porte-greffes de vignes et leur résistance à la chlorose. Ces végétaux semblent d'autant plus sensibles au calcaire actif du milieu que leur C.E.C.R. est grande. Par contre, plus récemment, WACQUANT J.P. (1969) étudiant l'adsorption préférentielle de divers taxons de végétations naturelles,constate que la plupart des plantes calcifuges analysées ont une C.E.C.R. faible comparées aux calcicoles. Toutefois cette constatation n'est pas générale, il remarque que certaines espèces écologiquement différentes ont des C.E.C.R. voisines ou identiques et conclut que cette propriété des racines ne permet pas,à elle seule,de distinguer des plantes à écologie différente.

Cet auteur constate enfin, qu'à C.E.C.R. égale, les espèces calcicoles adsorbent préférentiellement le calcium tandis que les calcifuges fixent davantage le potassium et le sodium. Les divers cations pourraient être retenus par des groupements différents de la membrane racinaire. WACQUANT suggère l'existence de sites d'adsorption spécifiques pour chaque cation, en rapport avec l'espèce végétale considérée.

Nous indiquerons enfin les travaux de SALSAC (1969) concernant les caractères particuliers de l'absorption du calcium. Cet auteur compare l'absorption de cet élément, par des racines excisées d'une espèce calcicole, à celle d'une espèce calcifuge. Il constate que l'absorption du calcium est plus lente par les racines de la plante calcifuge mais se prolonge plus longtemps. En présence de très fortes concentrations en calcium dans le milieu nutritif la teneur des racines excisées augmente beaucoup plus chez la plante calcifuge que chez la plante calcicole. L'action des pH alcalins est nettement plus importante pour l'espèce calcifuge. L'auteur pense pouvoir expliquer l'ensemble de ses observations par des phénomènes d'échange et des processus purement physicochimiques au niveau des membranes et autres structures cellulaires.

Le pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des cellules a été aussi envisagé. En comparant deux formes de maïs, l'un vert:Ys, l'autre jaune mutant:YS1, BELL W.D., et coll. (1958) remarquent que la forme mutée n'est plus capable de réduire le fer. De leur côté BROWN J.C. et coll. signalent que la chlorose ferrique du soja est en relation avec le génotype des racines. Ils établissent une relation entre la capacité réductrice des racines, l'absorption du fer et la susceptibilité à la chlorose ferrique (1961 - 1962).

L'étude du pouvoir réducteur des racines n'a pas été, à ma connaissance, étendue à l'ensemble d'une végétation spontanée et à son comportement écologique.

II - RECHERCHES RELATIVES AUX ACIDES ORGANIQUES

Il est connu depuis longtemps que le métabolisme des acides organiques intervient dans la balance cations-anions, au cours de l'accumulation des sels dans la plante DUNNE, T.C., (1932) ULRICH A., (1941). Une forte teneur en cations est couplée à une synthèse accrue en acides organiques OLSEN C., (1939) JACOBSON L., et coll., (1954); DIJKSHOORN W. (1962), SCHAEDLE M., et coll. (1966-1967)

Les acides organiques seraient les facteurs dominants dans les phénomènes actifs de l'absorption des cations BURSTROM H., (1961-1968); MOORE D.P., et coll. (1961); HIATT A.J., et coll. (1967).

Il a été prouvé enfin, que les racines des plantes exsudent dans le milieu extérieur des substances organiques CHABEREK S., et coll. (1959); SLANKIS V., et coll. (1964). Ces exsorptions sont constituées en grande partie d'acides organiques. Ils peuvent jouer un rôle de ligands pour de nombreux minéraux et facilitent ainsi leur absorption GRUNES et coll., (1960) ; MUIR J.W. et coll. (1964), DEVILLERS P., (1969). Or, T. Ya. CHKUASELI et coll. (1966) signalent que les variétés résitantes à la chlorose secrètent plus de composés organiques que les espèces sensibles.

L'analyse des recherches antérieures sur le comportement écologique des plantes calcicoles ou calcifuges laisse supposer, au niveau des racines, des différences importantes dans la composition chimique des membranes et dans leurs propriétés physico-chimiques. Ces différences sont probablement en rapport avec la sélectivité des ions absorbés. Sont-elles pour autant les seules responsables de la "calcicolie" ou "calcifugie" des plantes ?

Le métabolisme des acides organiques a souvent été cité comme jouant un rôle important dans la nutrition minérale, or, ses relations avec le comportement écologique des végétaux ont été peu envisagées.

D'autre part, la majeure partie des résultats acquis porte sur l'étude de racines excisées, cultivées in vitro. L'étude de la plante entière a été beaucoup moins abordée, L'analyse comparative de ses diverses parties (cotylédons, feuilles, tige, racines) est cependant susceptible de mettre en évidence d'autres phénomènes tel que le transport des substances minérales ou élaborées. Or le caractère "calcicole" ou "calcifuge" de certains végétaux pourrait être lié, entre autres, à des différences dans les migrations.

III - LES EFFETS DE LA CHLOROSE CALCAIRE SUR LES PLANTES CALCIFUGES

La chlorose calcaire est une maladie physiologique qui se caractérise par un jaunissement internervaire des limbes puis par des troubles du développement de la plante.

Il est actuellement bien connu que la chlorose calcaire est due à une déficience de la plante en fer soluble, provoquée par un excès de calcium actif dans le milieu. Les mécanismes de cette induction ne sont pas encore élucidés. Par contre les perturbations métaboliques qui en découlent ont fait l'objet d'un très grand nombre de travaux. Nous ne rappellerons ici que les principaux résultats concernant les effets de cette maladie sur la composition en éléments minéraux, en glucides solubles, en acides organiques et en acides aminés libres des plantes sensibles.

a) *La nutrition minérale*

Il est difficile de trouver une grande cohérence dans les nombreux résultats d'analyse concernant les effets de la chlorose sur la composition minérale des plantes : l'obtention d'échantillons sains ou chlorosés parfaitement comparables, en ce qui concerne l'âge des tissus, leur teneur en eau, etc..., présente de grandes difficultés. Toutefois nous pouvons retenir que la chlorose calcaire s'accompagne d'un accroissement de la teneur globale en éléments minéraux. Le calcium soluble et surtout le K s'accumulent dans les tissus malades. La diminution du rapport Ca/K a souvent été observée ILJIN W.S.,(1942-1943); DROUINEAU (1963); ; HERNANDO V. et coll.(1958); ZECH W.,(1970).

Les plantes chlorosées présentent une déficience en fer soluble mais non en fer total. OSERKOWSKY J.,(1933): LINDER R.C., et coll.,(1944); Mc GEORGE (1949).

b) *La photosynthèse et la composition en glucides*

La production des glucides dépend évidemment de la synthèse des pigments chlorophylliens et de leur activité photosynthétique.

1°) - Les pigments :

Le jaunissement internervaire des plantes chlorosées témoigne de nombreuses perturbations en ce qui concerne la composition en pigments de ces végétaux SHETTY A.S., (1966),constate que les feuilles de tabac chlorosé présentent une baisse des teneurs en chlorophylles de l'ordre de 45%.

Les travaux de OSTROVSKAYA K. et de ZAITSEVA N.A. (1967) signalent en plus une baisse des teneurs en carotenoïdes , une diminution du rapport chlorophylles/carotenoïdes et une augmentation du rapport chlorophylle a / chlorophylle b.

SHETTY (1966) pense qu'il existerait une certaine compétition entre la voie de synthèse, qui conduit aux chlorophylles et celle qui mène aux caroténoïdes. P. RECKENDORFER (1961) remarque des perturbations au niveau de la synthèse du complexe protoporphyrine - fer (Heme). Ces troubles proviendraient,d'après l'auteur,d'un déficit en fer, mais aussi, d'un manque de protoporphyrine. D'autre part MARSCH et coll.(1963)soulignent que la carence en fer n'est peut être pas le seul facteur responsable des troubles observés dans la synthèse des pigments, le manque d'énergie pourrait également être une cause du ralentissement de cette voie du métabolisme.

Enfin OSTROVSKAYA et ZAITSEVA démontrent que la chlorose affecte la teneur en pigments mais non leur activité photophosphorylante. Les plantes chlorosées utilisent davantage la photophosphorylation cyclique que ne le font les plantes saines.

2°) - Les glucides :

La chlorose calcaire provoque une diminution des teneurs en glucides solubles et en amidon. Mais proportionnellement à l'ensemble de ces composés, le taux de saccharose augmente ILJIN(1951). Plus récemment SHPOTA L.A., (1963) signale une baisse de l'hémicellulose et des oligo-saccharides dans les plantes chlorosées.

c) *Les acides organiques*

L'acidité organique totale de la plante croît lorsque celle-ci est atteinte de chlorose calcaire ILJIN,(1942): de KOCK et coll.(1958) etc... L'augmentation de la teneur en acides malique et surtout citrique a souvent été mise en évidence dans les feuilles chlorosées Mc. GEORGE (1949) SU L. Y. et coll.(1961). Les acides fumarique et isocitrique peuvent également s'accumuler chez certaines espèces RHOADES D. et coll.(1959). Par contre le taux d'acide oxalique diminue ILJIN : Mc. GEORGE : de KOCK... et les variations de l'acide malonique sont fonction du facteur qui induit la chlorose.

L'augmentation du taux de l'acide citrique serait liée, selon certains auteurs, à une baisse de l'activité enzymatique de l'aconitase. de KOCK et coll. (1958) : BACON J. S.D. et coll. (1961) : PALMER M.J. (1963) BERTRAND D. et coll. (1966).

Pour plusieurs physiologistes, l'augmentation des acides organiques serait le résultat de réaction de carboxylation en relation avec les phénomènes de l'absorption minérale JACOBSON (1955), MILLER G.W., (1960); HIATT A.J. et coll. (1967).
En effet, d'une part, les plantes carencées en fer fixent plus rapidement le CO_2 par leurs racines RHOADES W.A., (1959) et d'autre part, l'activité de la phospho-énol-pyruvate carboxylase augmente dans les tissus chlorosés. WALLACE A. et coll. (1960). Les acides malique et aspartique sont les premiers produits de cette réaction de carboxylation.

d) *Les composés azotés*

Les conséquences de la chlorose calcaire sur le métabolisme azoté ont été étudiées par ILJIN W.S. (1942) DEMETRIADE S.D., (1956) PERUR N.G. et coll. (1961) DROUINEAU G. (1963) M. Yu. GRIGORA (1965). Il ressort de ces divers travaux que la chlorose provoque une augmentation de l'azote total, de l'azote soluble, des acides aminés libres (en particulier l'acide aspartique et l'arginine) et des amides. Par contre, la teneur en azote protéique diminue. SCHOFFENIELS S., (1964) suppose l'existence d'une régulation du métabolisme des acides aminés par la composition ionique du milieu de culture. Ce dernier agirait sur l'activité de la glutamique - déshydrogénase.

Ainsi, l'analyse des travaux antérieurs montre que :
1°) - Les raisons de la "calcicolie" ou de la "calcifugie" des plantes ont été surtout recherchées au niveau des propriétés physico-chimiques des racines excisées. Les phénomènes physiologiques concernant la plante entière ont été, à notre connaissance, peu étudiés.

2°) - La plupart des auteurs qui ont abordé le problème de la chlorose calcaire, ont analysé avec précision, souvent uniquement dans les limbes, les différences qui apparaissent entre la plante saine et la plante chlorosée : (variations concernant leur développement, leur composition organique ou minérale, l'activité de certaines enzymes etc...). Or, un grand nombre de ces anomalies ne sont, en fait que des conséquences secondaires de la maladie. Avant de vouloir élucider les mécanismes selon lesquels un excès de calcium actif dans le milieu induit la chlorose calcaire, il serait peut être important d'essayer de distinguer quels en sont les effets véritablement primaires.

L'étude des divers organes de la plante doit être prise en considération si l'on veut donner une explication plus approfondie.

En comparant l'action d'un sol riche en calcaire actif chez plusieurs espèces végétales récoltées directement dans la nature et caractérisées par leur résistance très diverse au calcaire, on peut espérer mettre en évidence des phénomènes physiologiques réellement liés au caractère sensible ou résistant des plantes et contribuer ainsi à l'étude de leur comportement écologique.

C'est pourquoi, nous présenterons dans la première partie de ce travail, les principaux résultats de nos recherches concernant l'influence du calcaire sur la composition minérale et sur les acides organiques de plusieurs espèces écologiquement très différentes.

Partant des résultats ainsi acquis, nous analyserons plus en détail, dans la deuxième partie, l'instauration de l'état pathologique que représente la chlorose calcaire.

En étudiant, à plusieurs stades végétatifs, une plante sensible, placée dans des conditions chlorosantes, nous essayerons d'établir l'ordre chronologique suivant lequel apparaissent les diverses perturbations minérales et organiques : ceci permettra d'établir une distinction entre les effets primaires et les conséquences secondaires de cette maladie. Nous essayerons enfin de voir comment elles modifient la physiologie du végétal.

PREMIERE PARTIE

LES EFFETS DU CALCAIRE SUR LES VEGETAUX

CHAPITRE I

MATERIEL ET METHODES

A - MATERIEL

1 - MILIEUX DE CULTURE

Nous avons choisi pour cette expérimentation comparative plusieurs milieux naturels caractérisés par leur richesse ou leur pauvreté en calcaire actif. Les échantillons étudiés ont été récoltés :

- dans des lieux incultes où pousse une végétation spontanée
- dans des champs expérimentaux
- sur des cultures en pots remplis de terre provenant des sites naturels précédemment cités.

Dans la mesure du possible, chaque plante prélevée sur un milieu riche en calcaire (par conséquent susceptible d'induire la chlorose) a été comparée à des échantillons témoins de même espèce, récoltés sur un terrain voisin granitique (donc non chlorosant). Les conditions écologiques autres que pédologiques étaient ainsi sensiblement identiques.

a) *Les sites naturels*

Parmi les régions offrant la juxtaposition de ces deux types de sols nous avons retenu :

1°) - Ardèche : avec le calcaire d'Aubenas (Crétacé supérieur) et les terrains granitiques de la région de Thueyte.

2°) - Montagne Noire : un banc calcaire du Thanétien recouvre partiellement la région granitique de Montolieu offrant ainsi la juxtaposition des deux sortes de terrains. Etant donné la proximité relative de ce lieu, la plupart de nos récoltes en site naturel, y ont été réalisées. C'est aussi la raison

pour laquelle nous avons choisi ces sols pour nos cultures en pots.

Le tableau 1 rassemble les résultats numériques fournis par l'analyse physique de ces deux sols.

- Le terrain granitique, utilisé comme témoin, est un sable caillouteux assez riche en matière organique, en phosphate, chaux, magnésie, potasse et manganèse. Le soufre et le cuivre sont en faible quantité.

- Le terrain calcaire est un limon argileux sableux, fortement caillouteux, humifère, très riche en matière organique et en calcaire. Dans l'ensemble des bases échangeables (chaux, magnésie, potasse et soude) le taux relatif de chaux est particulièrement élevé. Le manganèse est moins abondant que dans le terrain siliceux.

b) *Les champs expérimentaux*

Nous avons choisi :

- des sols chlorosants et des sols non chlorosants du domaine expérimental de la station agronomique de Cognac situé dans la vallée de la Charente.

c) *Les cultures en pots*

Les cultures sont réalisées avec les sols granitique ou calcaire provenant de la Montagne Noire. Elles sont arrosées avec de l'eau distillée et soumises aux conditions atmosphériques de la région toulousaine.

2 - MATERIEL VEGETAL

Toutes les plantes ont été récoltées au moment de leur floraison, le matin avant 9 h. Les espèces peuvent se diviser en deux grandes catégories selon leur sensibilité vis à vis du calcaire :

a) *Les espèces résistantes au calcaire*

1°) - Les plantes calcicoles :

Ces plantes sont spécifiquement adaptées au calcaire. Nous avons retenu pour cette expérimentation des espèces sauvages formant la végétation spontanée et une espèce cultivée.

TABLEAU I

ANALYSE COMPARATIVE DES SOLS CHLOROSANTS ET NON CHLOROSANTS

(Montagne Noire - Culture en pots)

Analyse physique (en g par kg)	Sol non chlorosant	Sol chlorosant
gravier	208	454
sable grossier	500	181
sable fin	156	116
sable très fin	125	103
limon	108	349
argile	78	172
Calcaire total p. 1000	90	242
Calcaire actif (méthode DROUINEAU)	21	87
Matière organique	33	79
pH : eau	6,3	7,4
Analyse chimique (en p.p.m. ou mg par kg)		
Phosphates :		
méthode JORET-HEBERT	180	186
Soufre	21	34
Bases échangeables :		
chaux	1.900	6.000
magnésie	191	245
potasse	184	253
soude	31	31
Fer	334	168
Manganèse :		
Réductible	14	8.15
Echangeable	5.10	1.58
Cuivre	0.5	0.7

+ Analyse faite par le Laboratoire de l'Ecole Supérieure d'Agriculture de Purpan - Toulouse.

- Végétation spontanée :

Helianthemum vulgare
Spartium junceum L.
Lavandula latifolia Vill.

- Plante cultivée :

Vitis vinifera L. var. Berlandieri

2°) - Les plantes indifférentes : nous avons qualifié "d'indifférentes" les espèces végétales qui se reproduisent spontanément sur les deux sortes de terrain:

Ranunculus bulbosus L.
Braba verna L.
Hypericum perforatum L.
Anthyllis vulneraria L.
Eryngium campestre L.
Galium erectum L.
Achillea millefolium L.
Hieracium Pilosella L.

b) *Les espèces sensibles au calcaire*

Ce sont les plantes "calcifuges". Parmi ces dernières nous avons étudié :

- une végétation spontanée :
  - Sarothamus scoparius Koch
  Cornus sanguinea L.
  Lavandula staechas L.
  Castanea vulgaris Lam.

- des espèces cultivées :

Vitis vinifera L. var. Riparia
Lupinus albus L.

Nous avons en outre analysé des échantillons de Vitis vinifera var. St Emilion greffés sur deux porte-greffes différents 41 B et 169-49.

B - TECHNIQUES ANALYTIQUES

Dès la récolte, le matériel végétal est maintenu pendant le transport à une température voisine de 0°C. Les différents organes sont isolés, pesés et répartis en deux lots : le premier réservé aux analyses minérales, le second à l'étude des composés organiques.

I - ANALYSE DES MINERAUX

Après une préincinération sur plaque chauffante à 400°, les divers échantillons sont soumis à une incinération durant 2 h au four à moufle à 580°C. Les éléments minéraux sont dosés après: minéralisation par voie humide dans NO_3H concentré de densité 1,42, évaporation de cet acide, reprise à l'ébullition par NO_3H au 1/20, le volume final étant de 50 ml par g. de végétal minéralisé. C'est cette solution nitrique qui sert au dosage.

- le potassium est dosé au photomètre à flamme
- le calcium, magnésium, fer, cuivre et manganèse sont dosés au spectrophotomètre d'absorption atomique.

2 - ANALYSES DES COMPOSES ORGANIQUES

Le lot de matériel frais réservé à l'étude des composés organiques est à son tour divisé en trois parties destinées :

- à l'acidité organique totale
- au dosage des principaux acides organiques
- au dosage de l'acide oxalique qui représente un cas particulier.

a) *L'acidité organique totale*

Les dosages de l'acidité organique totale ont été faits suivant la méthode de J. CARLES et coll. (1963) . Cette méthode repose sur le principe de PUCHER (1941) suivant lequel les acides organiques étant des acides faibles peuvent être dosés par leur effet tampon. L'acide oxalique est dosé séparément. Quelques corrections permettent de tenir compte des exceptions.

b) *Les principaux acides*

1°) - Fixation-extraction : Les organes frais sont soumis à une fixation. Pour cela, le matériel végétal, débité extemporanément en petits fragments, est projeté dans l'alcool éthylique à 70° maintenu à l'ébullition.

L'extraction hydro-alcoolique est conduite ensuite selon la technique classique SCHNEIDER(1964). Les différents liquides d'extraction sont réunis, puis l'alcool est évaporé sous vide. Le résidu aqueux est centrifugé.

L'utilisation de l'alcool éthylique comme fixateur ou comme solvant présentait l'inconvénient d'une estérification en plus ou moins grande abondance des acides organiques. Une étude sur l'estérification des acides par les solvants alcooliques CARLES J., LATTES A. et F., (1961) nous a permis de déterminer et d'évaluer l'importance des esters ainsi formés. Nous en tiendrons compte dans l'expression de nos résultats.

2°) - Fractionnement : Le fractionnement des divers composés organiques est effectué par passage sur résines échangeuses d'ions (50-100 mesh X 8) Dowex 50, puis Dowex 1 selon le schéma 1.

Sur la fraction "acides organiques" nous réalisons une détermination quantitative des principaux acides.

3°) - Dosage : Le dosage des acides citrique, malique, malonique et tartrique a été réalisé par chromatographie sur colonne de célite. L'élution est faite au moyen d'un mélange butanol/chloroforme de concentration croissante en n-butanol.BOVE J. et RAVEUX (1957) CARLES J. et ALQUIER BOUFFARD A., (1965).

-Les acides quinique et shikimique ont été dosés après séparation par chromatographie sur colonne de résines anioniques selon la méthode de HULME A.C. et coll.(1958).

c) *L'acide oxalique*

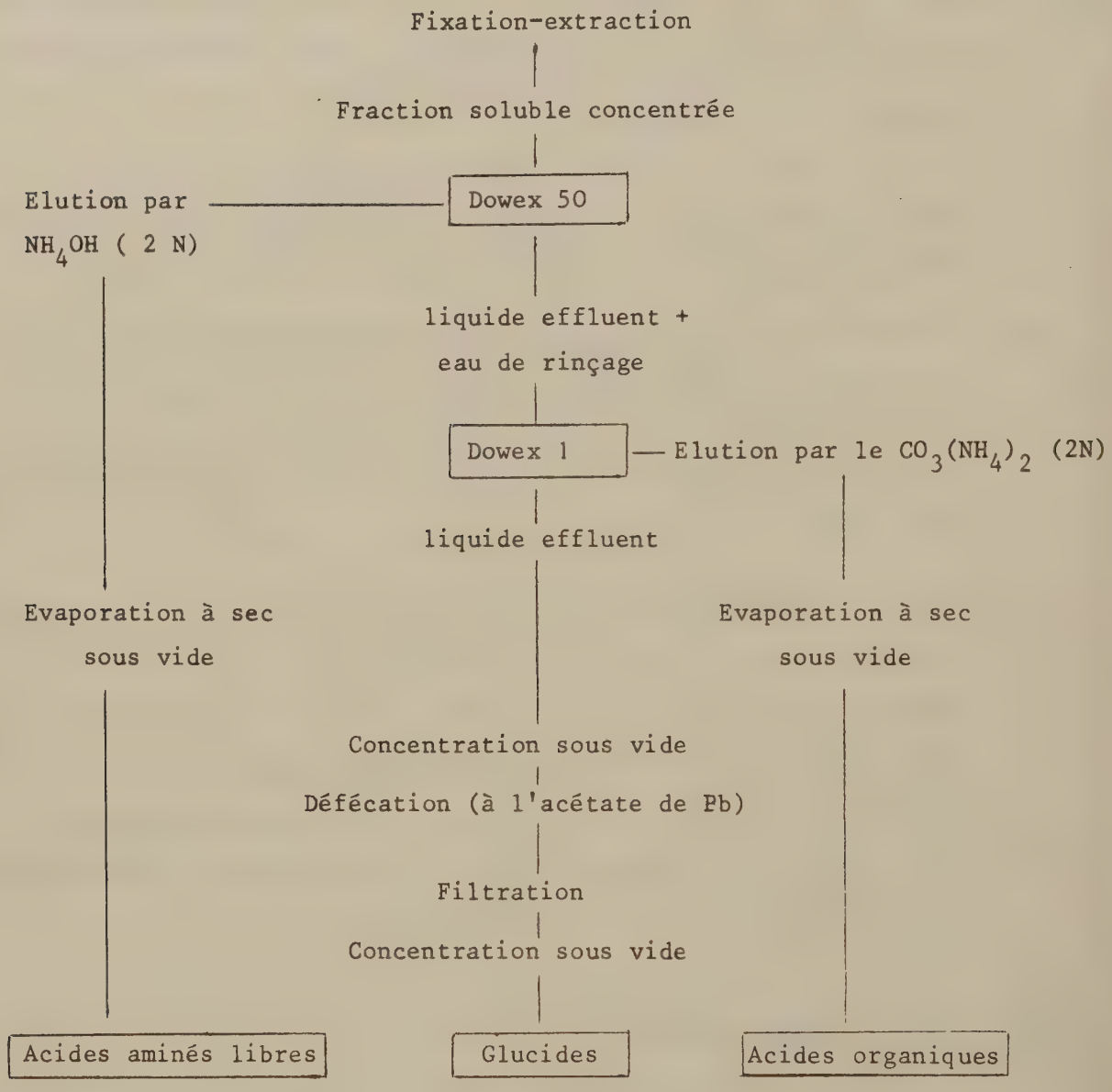
L'acide oxalique dont une grande partie se trouve dans les tissus sous forme d'oxalate de calcium, particulièrement insoluble, est dosé séparément par le permanganate, après extraction à l'acide chlorhydrique normal. MAUNE L., DULAC J. et BOUAT A.(1954) CARLES et coll.,(1963).

C - EXPRESSION DES RESULTATS

Lorsqu'il s'agit de comparer les résultats d'analyse de plantes diverses ayant poussé sur des sols différents et surtout lorsque celles-ci présentent des aspects très dissemblables tels qu'une plante saine et une plante chlorosée, le choix des critères de références et le mode d'expression

(SCHEMA 1)

SEPARATION DES DIFFERENTES CLASSES DE COMPOSES ORGANIQUES



des résultats d'analyse sont très délicats.

- Nous avons évité toutes références à un élément tel que l'azote, les chlorophylles etc... car la chlorose calcaire provoque des changements trop importants dans la composition organique et minérale de la plante malade.

- Se référer à un nombre défini de plantes ou d'organes, (il s'agit alors de "quantité") est un mode d'expression valable quand on se propose de comparer des échantillons aussi différents que des cotylédons, des limbes , des tiges ou des racines d'une même plante, mais il suppose d'avoir un nombre relativement élevé d'individus d'une même espèce. Or cela n'est pas toujours possible lorsqu'on récolte dans la nature des espèces diverses faisant partie de la végétation spontanée.

- Rapporter les résultats d'analyses à la masse de substance sèche est un mode d'expression très représentatif lorsqu'il s'agit d'étudier les minéraux d'une plante. Toutefois ces éléments sont dans l'eau : avec les acides organiques, les acides aminés libres et les glucides solubles, ils s'accumulent en grande partie dans le reticulum endoplasmique RANSON (1965) et font l'objet de migrations à travers les cellules et les différents organes de la plante. Par conséquent, la référence à l'eau des tissus ou bien au poids frais de l'échantillon nous a semblé être également très représentative de la vie de la plante.

Ce mode d'expression ne peut toutefois être adopté que si la teneur en eau des tissus chlorosés analysés n'est pas perturbée. Nous avons donc fait une étude sur l'état hydrique du Lupin et nous avons pu constater que la chlorose calcaire affecte l'hydratation des tissus bien après l'apparition des premiers symptomes de la maladie. Aux stades de végétation étudiés, les variations des teneurs en eau entre tissus sains et tissus chlorosés ne dépassent pas 3%. Nous adopterons donc ce mode d'expression et nous parlerons alors de "teneurs" ou de "taux".

CHAPITRE II

"LES EFFETS DU CALCAIRE SUR LES COMPOSANTS MINERAUX DE LA PLANTE"

La composition minérale des plantes dépend de la disponibilité des ions présents dans le sol et du génotype de chaque espèce. Elle permet parfois de caractériser certains groupements végétaux, témoignant par conséquent d'une spécificité d'absorption sélective. Ainsi, cultivées dans une même prairie, les graminées ont une teneur élevée en potassium alors que les légumineuses sont au contraire riches en calcium MAUNE,(1946). La répartition géographique des flores calcicoles et calcifuges montre également cette spécificité des espèces en ce qui concerne leur nutrition DUVIGNEAUD et coll.,(1962).

Toutefois, pour l'étude des divers groupes phyto-écologiques, l'analyse minérale seule n'est pas suffisante : elle n'indique pas pourquoi et comment une espèce calcifuge chlorose sur sol calcaire alors qu'une plante "indifférente" y vit normalement. Par contre, en présence d'un milieu enrichi en calcaire actif, les réactions physiologiques de tous les végétaux se traduisent, entre autre, par des modifications de leur composition minérale. Le sens et l'ampleur de ces variations montrent comment chaque plante réagit à un apport accru de calcium.

Ainsi, en comparant les différentes répercussions d'un sol riche en calcaire sur la composition minérale de plusieurs espèces végétales caractérisées par leurs résistances très diverses à ce facteur, nous pourrons mettre en évidence des réactions physiologiques réellement liées au caractère "sensible" ou "indifférent" de la plante.

Le potassium, le calcium et le magnésium représentent du point de vue quantitatif l'essentiel des cations des végétaux. Nous étudierons donc les effets d'un sol riche en calcaire sur la teneur globale (K + Ca + Mg) des

plantes. Nous envisagerons ensuite les variations de la teneur,de la proportion relative et de la répartition de chacun d'eux dans l'ensemble de la plante.

Il est actuellement bien connu que les plantes atteintes de chlorose induite par le calcaire présentent tous les symptômes d'une carence ferrique : "Les espèces chlorosantes sont capables de prélever du fer en sol calcaire, mais cet élément est rendu insoluble à l'intérieur des plantes et ne participe plus à leur métabolisme". S. TROCME (1960).

Les déterminations qualitatives et quantitatives des diverses formes sous lesquelles se trouve le fer dans la plante sont évidemment d'une grande importance lorsqu'on cherche à connaitre les raisons exactes pour lesquelles les espèces chlorosées n'utilisent pas le fer absorbé, mais, pour déterminer les effets d'un sol calcaire sur la pénétration et la répartition du fer dans la plante,l'examen des teneurs en fer total est un point important.

Nous donnerons ensuite les résultats d'analyses concernant deux autres oligo-éléments : le manganèse et le cuivre, dont l'antagonisme avec le fer est bien connu. HEWITT (1963) BAEYENS (1966). Ces deux éléments interviennent également dans la biosynthèse de la chlorophylle.

A partir d'analyses faites sur des végétaux récoltés simultanément sur des sols pauvres ou riches en chaux, nous comparerons les répercussions d'un tel changement de nutrition sur la composition minérale de la plante et nous essayerons de préciser quelles sont les réactions physiologiques qui distinguent une espèce sensible d'une espèce résistance à la chlorose calcaire.

A - *SOL CALCAIRE et SOL NON CALCAIRE*

Comme nous l'avons déjà signalé, les deux sols sur lesquels ont été prélevé un grand nombre de nos échantillons se trouvent dans la Montagne Noire, à quelques dizaines de mètres l'un de l'autre. Afin de pouvoir interprêter les variations des teneurs en minéraux observées chez les plantes récoltées simultanément sur ces deux terrains, il est nécessaire de rappeler ici les différences essentielles qui les caractérisent : (tableau II).

Comme on pouvait s'y attendre puisqu'on passe d'un terrain granitique à un terrain calcaire, la teneur en chaux varie d'une façon considérable : de 1900 à 6000 ppm, soit une augmentation de 216%. Le taux de potasse s'accroit de 38%, celui de magnésie de 33%. Par contre le fer extractible diminue de 50%, le manganèse de 69% tandis que le cuivre augmente de 40%.

- TABLEAU II -

ANALYSE COMPARATIVE D'UN SOL TEMOIN PAUVRE EN CALCAIRE (I) et D'UN SOL RICHE EN CALCAIRE (II)

(Montagne Noire - Culture en pots)

1 - Teneurs en phosphates et en bases échangeables (chaux, magnésie, potasse) exprimées en ppm
2 - Proportions relatives existant entre les diverses bases
3 - Teneurs en oligoéléments (fer, manganèse, cuivre)
V - Variation relative (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol témoin)

		I	II	V
1	Phosphates	180	186	+ 3
	Chaux	1900	6000	+ 216
	Magnésie	191	255	+ 33
	Potasse	184	253	+ 38
	TOTAL	2275	6508	+ 186
2	Chaux / bases échangeables	83,5	92	+ 11
	Magnésie / bases échangeables	8,4	4,2	- 50
	Potasse / bases échangeables	8,1	3,8	- 53
3	Fer	334	168	- 50
	Manganèse	5,10	1,58	- 69
	Cuivre	0,50	0,70	+ 40

Par rapport à l'ensemble des trois principales bases échangeables, si nous considérons la proportion de chaux, nous voyons qu'elle augmente assez nettement (11%) tandis que celles de la magnésie et de la potasse baissent de moitié.

B - *LES PRINCIPAUX CATIONS : K - Ca et Mg*

Nous avons regroupé dans les tableaux III et IV les résultats des analyses concernant les teneurs en K, Ca et Mg des limbes et des tiges de quelques plantes récoltées simultanément sur les deux terrains. Les variations relatives (V) ont été exprimées en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire.

Pour une même espèce, l'importance et le sens de la variation de la teneur en chacun des cations considérés peuvent différer selon la nature de ce dernier. Il s'ensuit alors une modification dans les proportions relatives existant entre les divers cations.

Les tableaux V et VI fournissent les valeurs des rapports :

$$\frac{K}{K + Ca + Mg} \times 100, \quad \frac{Ca}{K + Ca + Mg} \times 100, \text{ et } \frac{Mg}{K + Ca + Mg} \times 100$$

1 - LA TENEUR GLOBALE : K + Ca + Mg

Nous avons, dans un premier temps, comparé les teneurs globales en K + Ca + Mg de diverses plantes récoltées sur un sol non chlorosant, puis nous avons ensuite analysé les différentes modifications qu'un sol riche en calcaire actif provoque sur ces espèces.

Ainsi, sur sol pauvre en calcaire, nous avons pu constater un net regroupement des espèces végétales selon leur sensibilité au calcaire. Les teneurs en K + Ca + Mg sont souvent plus faibles (fig. I). Toutefois, ce caractère n'est pas suffisant pour distinguer à lui seul les deux groupements phyto-écologiques.

Les analyses comparatives faites sur les mêmes espèces récoltées sur sol riche en calcaire montrent que les plantes "indifférentes" présentent une réduction ou parfois une légère augmentation des teneurs en cations (V = -30% à + 15%). Par contre, chez les plantes connues pour leur grande sensibilité, l'augmentation du calcaire actif du milieu, se répercute beaucoup plus (de + 30% à + 37% dans les limbes et de + 106% à + 140% dans certaines tiges). (Tableaux III et IV).

TENEUR en K, Ca et Mg DES LIMBES DE QUELQUES PLANTES RECOLTEES SUR SOL PAUVRE EN CALCAIRE (I) ou SUR SOL RICHE EN CALCAIRE (II) (exprimée en meq. % g. sec)

V = Variation relative de cette teneur (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire)

M = Milieu de culture (Ce = champ expérimental de Cognac : Sn_2 = site naturel de la Montagne Noire : Cp = culture en pots).

	M	K			Ca			Mg			K + Ca + Mg		
Plantes indifférentes		I	II	V	I	II	V	I	II	V	I	II	V
Ranunculus	Sn_2	53,7	78	+ 45	64,3	58,3	- 9	35,7	34,3	- 4	153,7	170	+ 10
Draba	Sn_2	70,5	78	+ 11	88,3	84,3	- 5	21,7	24,1	+ 11	180,7	186,5	+ 3
Anthyllis	Sn_2	16,8	18	+ 7	260,5	214,5	- 17	25,2	32	+ 27	302,5	264,5	- 13,5
Eryngium	Sn_2	32,2	30,7	- 3	184,8	119	- 55	12,2	26	+ 115	229,2	175,7	- 30
Galium	Sn_2	85,9	76	- 11	56,8	52,4	- 8	25,6	47	+ 84	168,5	176	+ 4,5
Hieracium	Sn_2	64,5	103,5	+ 60	65,4	59,3	- 9	40	28,1	- 30	169,5	191	+ 13
Plantes sensibles													
Cornus	Sn_2	26,6	29,6	+ 11	133,7	143,7	+ 7	57,5	29,6	- 48	217,9	202,9	- 7
St Emilion / 41B	Ce	30,2	43,5	+ 42	41,4	65,8	+ 60	26,2	25,2	- 4	97,8	134,5	+ 37
St Emilion/161-49	Ce	24,3	34,2	+ 41	58,8	97,3	+ 65	36,3	23	- 36	119,5	154,6	+ 30
Lupinus	Cp	41,4	56,2	+ 35	40,9	57,4	+ 40	22	29,5	+ 34	104,3	143,1	+ 37

- TABLEAU IV -

TENEUR en K, Ca et Mg DES TIGES DE QUELQUES PLANTES RECOLTEES SUR SOL PAUVRE EN CALCAIRE (I) OU SUR SOL RICHE EN CALCAIRE (II) (exprimée en meq. % g sec.)

V = Variation relative pour cent de cette teneur (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire)

M = Milieu de culture (Ce = champ expérimental de Cognac : Sn_1 = site naturel de l'Ardêche Sn_2 = site naturel de la Montagne Noire : Cp = culture en pots).

	M	K			Ca			Mg			K + Ca + Mg		
Plantes indifférentes		I	II	V	I	II	V	I	II	V	I	II	V
Ranunculus	Sn_2	112,5	110,5	- 1	38,4	36	- 6	17,9	18,5	+ 3	168,8	165	- 2
Anthyllis	Sn_2	30,7	22,6	- 26,5	86,3	95,9	+ 11	22,8	27,6	+ 21	139,6	146	+ 4
Eryngium	Sn_2	60,6	29,4	- 51	131,3	133,8	+ 1	17,7	10,4	- 41	209,6	173,6	- 17
Galium	Sn_2	100	104	+ 4	46	22,5	- 45	14,8	19,7	+ 33	160,8	146,5	- 9
Plantes sensibles													
Cornus	Sn_2	8,9	10,7	+ 20	31,9	46,4	+ 45	7,4	5,7	- 23	48,2	62,9	+ 30
St Emilion/41B	Ce	67	80	+ 20	35,9	36,4	+ 1	23	24,3	+ 5	125	140,7	+ 11
Lupinus	Cp	51,9	91	+ 75	19,9	52,9	+ 160	11,4	28,1	+ 145	83,3	172	+ 105
Castanea:écorce	Sn_1	6,6	7,9	+ 18	61,3	174,6	+ 185	8,2	0,4		76,1	182,9	+ 140
bois		2,8	6,1	+ 118	4,9	16,9	+ 244	3,3	1,6	- 51	11	24,6	+ 125

TABLEAU V

EFFETS D'UN SOL CALCAIRE SUR LES PROPORTIONS RELATIVES EXISTANT ENTRE LES PRINCIPAUX CATIONS K, Ca et Mg des LIMBES DE QUELQUES PLANTES

I = Sol témoin pauvre en calcaire : II = Sol riche en calcaire
M = Milieu de culture (Ce : champ expérimental de Cognac : Sn_2 = site naturel de la Montagne Noire : Cp = culture en pots)
D = Différence de pourcentage par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire
V = Variation relative (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire.

	M	K/K + Ca + Mg				Ca/K + Ca + Mg				Mg/K + Ca + Mg			
Plantes indifférentes		I	II	D	V	I	II	D	V	I	II	D	V
Ranunculus	Sn_2	35	45,7	+ 10,7	+ 30	41,8	34,2	- 7,6	- 18	23,2	20,1	- 3,1	- 13
Draba	Sn_2	39	41,8	+ 2,8	+ 7	48,8	45,2	- 3,6	- 8	12	12,9	+ 0,9	+ 7
Anthyllis	Sn_2	5,6	6,8	+ 1,2	+ 21	86,1	81	- 5,1	- 7	8,3	12,2	+ 3,9	+ 47
Eryngium	Sn_2	14	17,4	+ 3,4	+ 24	80,6	67,7	-12,9	- 16	5,4	14,8	+ 9,4	+174
Galium	Sn_2	51	43,1	- 7,9	- 15	33,7	29,7	- 4	- 12	15,2	27,1	+11,9	+ 56
Hieracium	Sn_2	38	54,2	+ 16,2	+ 42	38,5	31	- 7,5	- 20	23,5	14,8	- 8,7	- 37
Plantes sensibles													
Cornus	Sn_2	12,2	14,6	+ 2,4	+ 20	61,3		+ 9,5	+ 16	26,4	14,6	-11,8	- 45
St Emilion/41B	Ce	30,9	32,3	+ 1,4	+ 4	42,3		+ 6,7	+ 16	26,8	18,7	- 8,1	- 30
St Emilion/161-49	Ce	20,3	22	+ 1,7	+ 8	49,2		+13,8	+ 28	30,5	15	-15,5	- 51
Lupinus	Cp	39,7	39,3	- 0,5	- 1	39,2		+ 0,8	+ 2	21,1	20,6	- 0,5	- 5

TABLEAU VI

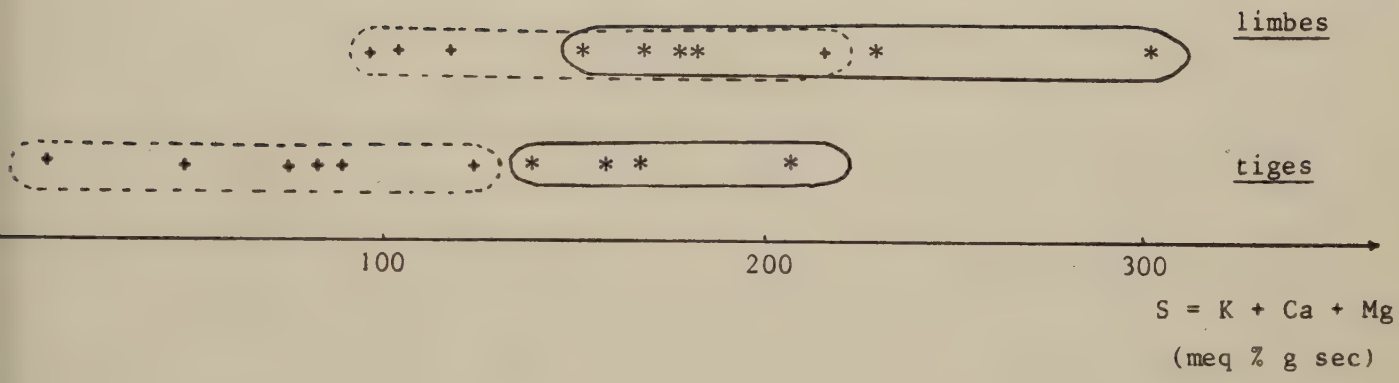
EFFETS D'UN SOL CALCAIRE SUR LES PROPORTIONS RELATIVES EXISTANT ENTRE LES PRINCIPAUX CATIONS K, Ca et Mg DES TIGES DE QUELQUES PLANTES

I = Sol témoin pauvre en calcaire : II Sol riche en calcaire
M = Milieu de culture (Ce : champ expérimental de Cognac : Sn_1 : site naturel de l'Ardèche
Sn_2 : site naturel de la Montagne Noire : Cp : culture en pots)

D = Différence de pourcentage par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire
V = Variation relative (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire).

	M	K/K + Ca + Mg				Ca/K + Ca + Mg				Mg/K + Ca + Mg			
Plantes indifférentes		I	II	D	V	I	II	D	V	I	II	D	V
Ranunculus	Sn_2	66,6	67	+ 0,4	+ 0,6	22,7	21,7	- 1	- 4	10,6	11,2	+ 0,6	+ 6
Anthyllis	Sn_2	22	15,5	- 6,5	- 30	61,7	65,6	+ 3,9	+ 6	16,3	18,9	+ 2,6	+ 16
Eryngium	Sn_2	28,9	17	- 11,9	- 41	62,6	77	+ 14,4	+ 23	8,5	6	- 2,5	- 30
Galium	Sn_2	62,3	71,2	+ 8,9	+ 14	28,5	15,3	- 13,2	- 46	9,2	13,5	+ 4,3	+ 47
Plantes sensibles													
Cornus	Sn_2	18,5	17	- 1,5	- 8	66,1	73,7	+ 7,6	+ 12	15,3	9,15	- 6,1	- 40
St Emilion/41B	Ce	53,2	56,9	+ 3,7	+ 7	28,5	25,9	- 2,6	- 9	18,3	17,3	- 1,1	- 5
Lupinus	Cp	62,3	52,9	- 9,4	- 15	23,9	30,7	+ 6,8	+ 28	13,7	16,3	+ 2,6	+ 19
Castanea : écorce	Sn_1	8,7	4,3	- 4,4	- 50	80,5	95,5	+ 15	+ 19	10,8	0,2	- 10,6	
bois		25	24,8	- 0,2	- 1	44,5	68,7	+ 24,2	+ 54	30	6,5	- 23,5	- 79

Figure 1



TENEURS COMPARATIVES EN K + Ca + Mg DE QUELQUES PLANTES RECOLTEES SUR SOL PAUVRE EN CALCAIRE

* plantes indifférentes

\+ plantes calcifuges

2 - LES DIVERS CATIONS

Pour chacun des principaux cations, nous considérons tout d'abord leur teneur rapportée à la masse de substance sèche. Cette valeur donne une idée de la quantité absorbée par la plante, c'est-à-dire de sa richesse en tel ou tel cation.

Nous envisagerons ensuite la teneur de chacun par rapport à la somme globale des trois. Ce nouveau paramètre est susceptible de mettre en évidence une absorption et une teneur préférentielle pour l'un ou l'autre de ces cations.

a) *Le calcium*

1°) - Teneur

Nous avons représenté dans la figure 2 :

- sur l'axe de x : les teneurs en calcium, en meq. % g sec, de chaque échantillon récolté sur sol pauvre en calcaire.
- sur l'axe des y : les variations de cette teneur lorsque les mêmes plantes poussent sur sol riche en calcaire.

Sur un sol siliceux, on constate que les espèces indifférentes à la chlorose sont souvent plus riches en calcium que les plantes sensibles.

Lorsque la quantité de chaux échangeable s'accroit de 216% dans le sol, les variations relatives (V) de la teneur en calcium des plantes "indifférentes" sont en général de faible amplitude (de - 20% à + 11%). Le calcium ne pénètre donc pas davantage dans les parties aériennes de ces plantes. Souvent même, sa teneur est réduite par rapport au témoin (tableau III).

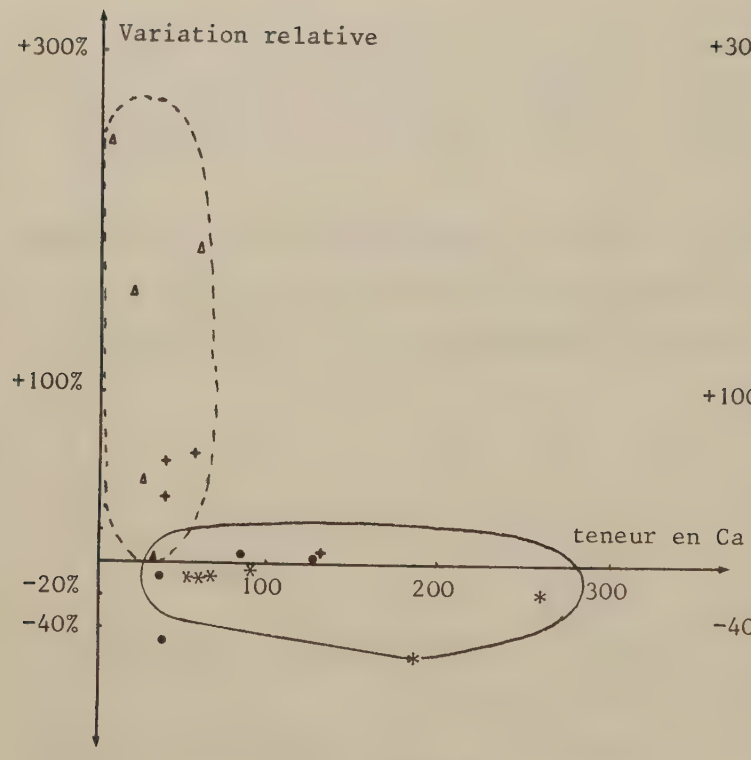
Par contre, les plantes calcifuges, face à un apport accru de calcaire, sont incapables de maintenir une certaine stabilité du taux de calcium dans leurs tissus. Ce taux augmente anormalement surtout au niveau des tiges. (V = + 160% dans le Lupin et de + 185% à + 244% dans le Châtaignier).

2°) - Relation entre la teneur en calcium et la somme S = K + Ca + Mg

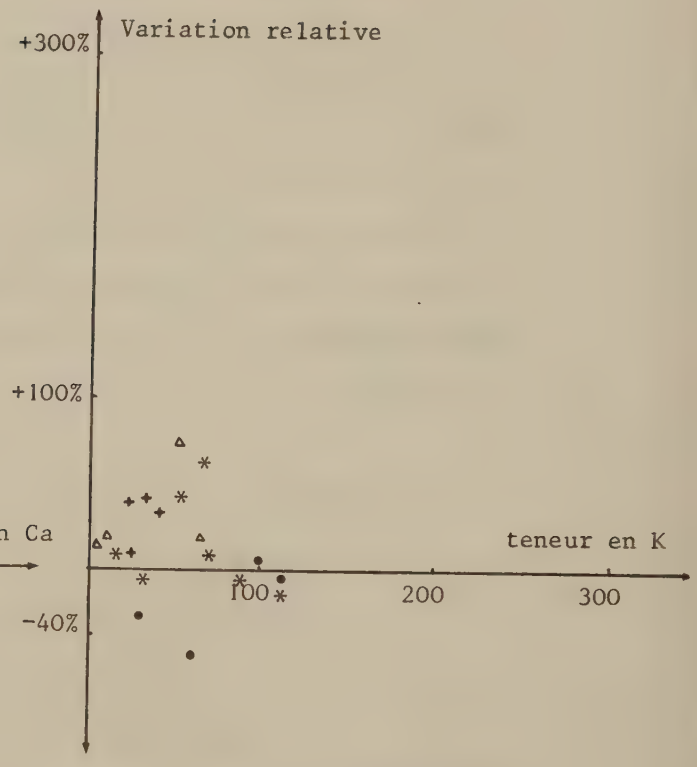
La figure 3 représente les taux de calcium des feuilles en fonction de la somme S des trois principaux cations, mesurée dans ces mêmes organes.

D'une façon générale, la teneur en calcium croît lorsque la teneur globale K + Ca + Mg augmente dans les tissus. La relation entre ces deux paramètres est de forme linéaire. Les écarts à cette linéarité s'expliquent par la diversité des espèces végétales analysées.

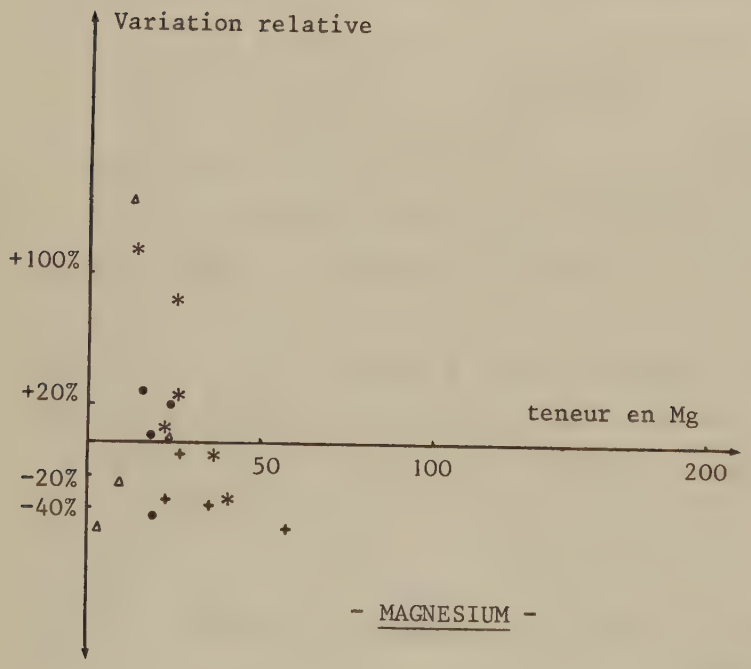
Figure 2



- CALCIUM -



- POTASSIUM -

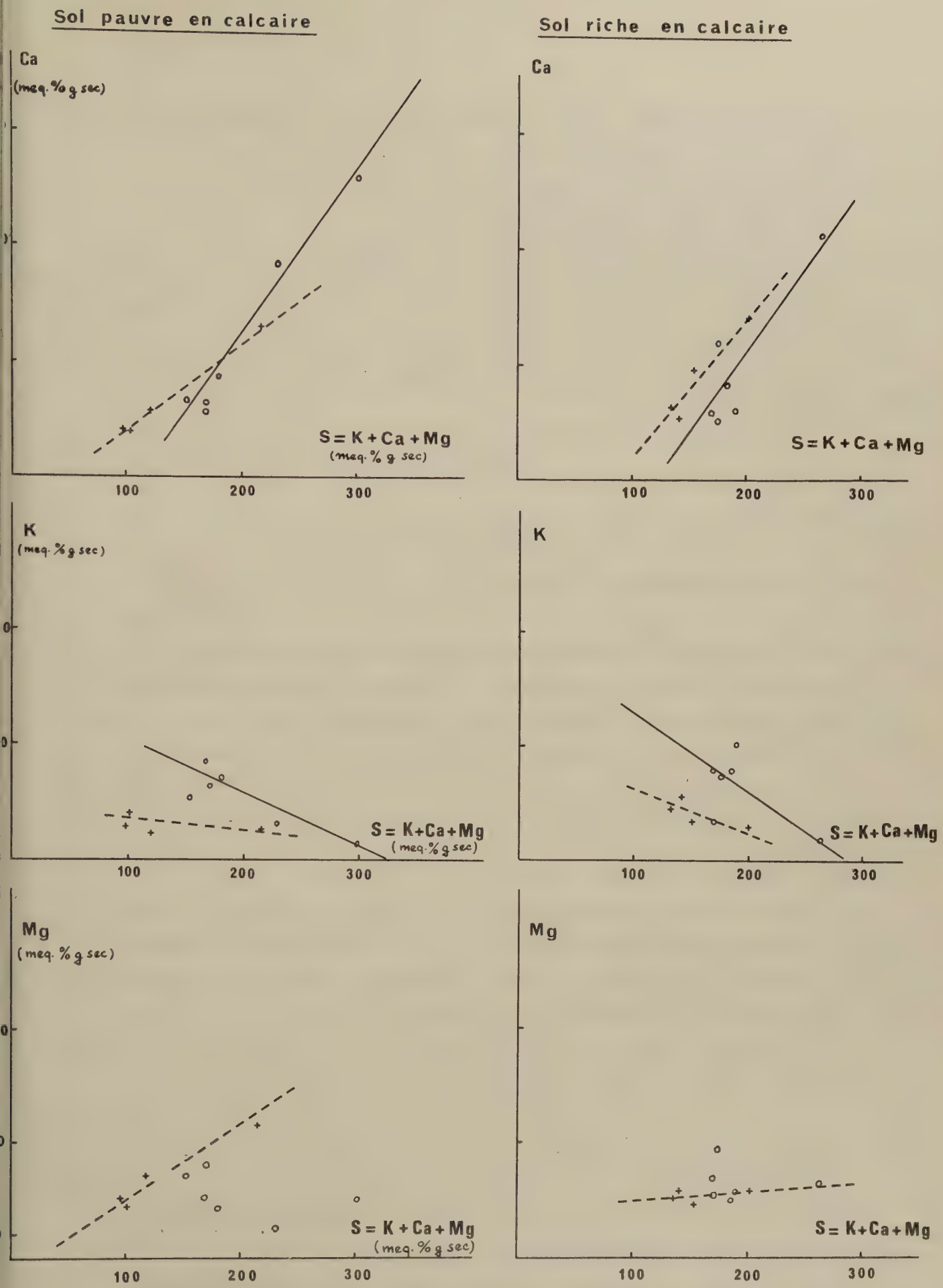


- MAGNESIUM -

Légende : teneur (exprimée en meq% g sec)
Variation relative (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol témoin)

* limbes des plantes indifférentes
• tiges des plantes indifférentes
+ limbes des plantes calcifuges
△ tiges des plantes calcifuges

Fig. 3



Relation entre la teneur en Ca, K ou Mg et la somme S = K + Ca + Mg

o plantes indifférentes

+ plantes calcifuges

Les différences entre les espèces sensibles et les espèces résistantes sont faibles, toutefois nous pouvons remarquer qu'à valeur de S égale, les teneurs en calcium des limbes des espèces calcifuges sont plus élevées que celles des espèces "indifférentes".

Au niveau des tiges, la distribution des points semble désordonnée. Le nombre restreint de nos analyses ne permet pas de confirmer cette première observation : mais il est possible que dans les tiges, les phénomènes de transport interfèrent et masquent d'une certaine manière, la spécificité des tissus en ce qui concerne leur teneur préférentielle en tels ou tels cations minéraux.

Un apport accru de calcaire dans le milieu nutritif se répercute relativement peu sur les rapports entre le calcium et la somme K + Ca + Mg de ces végétaux.

b) *Le potassium*

1°) - Teneur

Les teneurs en potassium des diverses plantes analysées ici et leurs variations relatives en fonction d'un sol riche en calcaire ne permettent pas de distinguer ces espèces selon leur sensibilité à l'égard du calcaire. Les résultats de nos analyses, illustrés dans la figure 2, montrent une distribution groupée et désordonnée des points, alors que pour le calcium, nous avions pu constater une nette différence entre les deux groupements phytoécologiques.

2°) - Relation entre la teneur en K et la somme : S = K + Ca + Mg

Une relation linéaire relie les taux de potassium à la somme : S = K + Ca + Mg. Le K décroit lorsque S augmente (figure 3). Ce phénomène est beaucoup moins accentué chez les plantes calcifuges.

Pour des valeurs de S voisines, les plantes "indifférentes" possèdent toujours plus de potassium que les plantes calcifuges.

Une nutrition riche en calcaire augmente légèrement le taux de potassium par rapport au taux global K + Ca + Mg. Cette répercussion se retrouve dans la plupart des plantes, qu'elles soient résistantes ou non au calcaire. Elle ne peut donc pas constituer un caractère distinctif.

c) *Le magnésium*

1°) - Teneur

Les teneurs en magnésium ne permettent pas, à première vue, de distinguer les deux groupements phyto-écologiques. En effet, la plupart des échantillons analysés présentent des teneurs comprises entre 15 et 35 meq % g de matière sèche, quelque soit leur sensibilité à l'égard du calcaire (figure 2).

Les variations de ces teneurs, en fonction du sol calcaire semblent également assez diverses. Toutefois, si l'on ne considère que les limbes, nous pouvons remarquer que la teneur en magnésium augmente chez un grand nombre de plantes "indifférentes" et diminue chez toutes les plantes "sensibles" (tableau III et figure 2).

2°) - Relation entre la teneur en Mg et la somme S = K + Ca + Mg

Les relations entre la teneur en Mg et la somme globale des cations diffèrent selon la sensibilité des espèces à l'égard du calcaire présent dans le milieu.

Dans les limbes des plantes indifférentes, la quantité de Mg ne semble pas être en relation directe avec la somme des cations absorbés. La distribution des points de la figure 3 est désordonnée. Les teneurs en Mg se situent en général dans une zone comprise entre 20 et 40 meq % g sec quelque soit l'importance de la teneur globale en cations.

Un apport accru de calcaire dans le sol modifie peu le taux de Mg par rapport à celui de l'ensemble des cations.

Dans les limbes des plantes sensibles récoltées sur sol pauvre en calcaire, la teneur en Mg des feuilles augmente lorsque la somme S des cations s'accroît (figure 3). Ce phénomène disparait sur sol chlorosant. Il serait intéressant de pouvoir vérifier sur un nombre beaucoup plus élevé de plantes calcifuges, si une telle observation est générale ou bien simplement propre aux échantillons analysés ici.

Un apport accru de calcaire diminue le taux de Mg par rapport à celui de l'ensemble des cations.

C - LES OLIGO-ELEMENTS

Nous avons rassemblé dans le tableau VII les résultats les plus significatifs concernant les teneurs en fer, manganèse et cuivre de quelques plantes récoltées sur terrain pauvre ou riche en calcaire.

TABLEAU VII

TENEURS COMPARATIVES EN Fe, Mn et Cu, CHEZ QUELQUES PLANTES RECOLTEES SUR TERRAIN PAUVRE EN CALCAIRE (I) OU RICHE EN CALCAIRE (II) (exprimées en ppm)

M = milieu de culture (Ce : champ expérimental de Cognac :
Sn_1 : site naturel de l'Ardèche.
Sn_2 : site naturel de la MontagneNoire :
Cp : culture en pots)

V = Variation des teneurs en oligo-élément (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire)

	M	Fe			Mn			Cu		
Plantes indifférentes		I	II	V	I	II	V	I	II	V
Ranunculus bulbosus	Sn_2									
limbes		476	396	-17	88,4	56,3	-36	15,8	17,1	+8
tiges		195	155	-20	27,6	25,4	- 8	16,3	13,6	-17
Draba verna	Sn_2									
limbes		1056	2048	+93	91,1	97	- 6	8,6	13,1	+50
Anthyllis Vulneraria	Sn_2									
limbes		172	293	+70	80	107	+34	8,8	11,8	+33
tiges		73	94,8	+30	34	26,6	-21	6,4	9	+40
Eryngium campestre	Sn_2									
limbes		105	47	-55	58	126,4	+117	13,6	5,6	-59
tiges		37	28,8	-22	21,3	64,3	+200	6,6	13,8	+110
Galium erectum	Sn_2									
limbes		202	175	-13	83	30,8	-63	10,6	14	+13
tiges		142	46	-68	33,5	14,7	-55	8,1	9,8	+20
Achillea millefolium	Sn_2	57,5	89,1	+55	77,3	71,8	- 7	8,6	10,1	+17
Hieracium Pilosella	Sn_2									
limbes		878	635	-28	198	58,8	-70	21,2	16,7	-20
racines		3000	3640	+20	306	277	-10	24,2	43,6	+80
Plantes sensibles										
Cornus sanguinea	Sn_2									
limbes		62,5	38,7	-37	116	22	-81	0,88	0,76	-13
tiges		23,7	18,7	-21	21	15	-28	0,69	0,80	+16
St Emilion/41 B	Ce									
limbes		198	119	-40	41,5	24,1	-42	171	205,6	+20
pétioles		23	46	+100	13,4	4,0	-70	86,8	46,4	-46
sarments		23	23	-	12,0	12,0	-	123,3	58,8	-52
St Emilion/161-49	Ce									
limbes		297	224	-24	41,5	60,3	+50	177	169	- 4
pétioles		66	59	-10	24,1	45,5	+90	193	179	- 7
Lupinus albus	Cp									
limbes		251	191	-24	1902	2144	+12	9,65	7,7	-20
pétioles		333	582	+72	696	348	-50	13,4	9,8	-27
tiges		702	594	-16	447	400	-10	8,8	10,2	+ 16
racines		3900	4851	+24	318	278	-13	14,1	11,3	-20
Castanea vulgaris	Sn_1									
écorce		22,5	18,7	-17	292	180	-38	0,8	0,77	- 4
bois		15	12,5	-17	48	52	+ 8	1,03	0,45	-56

1 - LE FER

Rappelons ici que la quantité de fer échangeable du sol calcaire de la Montagne Noire est réduite de moitié par rapport à celle du terrain granitique pris comme témoin.

Lorsqu'on examine les teneurs comparatives en fer chez des végétaux récoltés simultanément sur ces deux terrains, il est difficile d'observer à première vue des différences susceptibles de distinguer les espèces "sensibles" des espèces "indifférentes" à la chlorose. En effet, sur terrain calcaire, certaines plantes indifférentes tel que Draba, Anthyllis, Achillea, sont capables d'absorber davantage de fer (+ 20% à + 93%) malgré la réduction de ce dernier dans le milieu (tableau VII) : d'autres au contraire, en absorbent moins (-33% à -68%) mais cette diminution est, dans la plupart des cas, inférieure à celle qui est offerte par le milieu.

Nous avons calculé les rapports :

$$\frac{\text{teneur en fer des limbes}}{\text{teneur en fer des organes conducteurs}}$$

Les résultats rassemblés dans le tableau VIII montrent que les valeurs obtenues augmentent chez la plupart des espèces "indifférentes" récoltées sur terrain calcaire. Il est possible qu'en présence d'un tel milieu, ces végétaux modifient leur répartition du fer en faveur de leurs limbes. L'Eryngium cependant, semble faire exception à cette observation.

Nous avons remarqué enfin une importante accumulation de fer au niveau des pétioles de Vigne et de Lupin. Le taux de cet élément y augmente respectivement de 100% et de 72% alors qu'il diminue dans les autres parties aériennes.

Toutefois, ces quelques observations concernant l'action d'un sol calcaire sur la répartition du fer dans la plante ne peuvent pas être encore généralisées. Les analyses effectuées ne sont pas assez nombreuses pour une étude statistique.

2 - LE MANGANESE

La diminution du taux de manganèse signalée dans le sol calcaire semble se répercuter dans l'ensemble des échantillons analysés. Seul l'Eryngium et la Vigne (St Emilion 41 B) augmentent leur teneur en cet élément, présentant ainsi une absorption préférentielle accrue pour ce dernier. Toutefois, dans les conditions expérimentales choisies ici, il nous a été difficile d'établir une relation entre la teneur en manganèse des plantes et leur caractère écologique.

TABLEAU VIII

EFFET D'UN SOL CALCAIRE SUR LA REPARTITION DU FER DANS QUELQUES PLANTES RECOLTEES SUR SOL PAUVRE EN CALCAIRE (I) OU SUR SOL RICHE EN CALCAIRE (II)

R_1 = Rapport teneur en fer des feuilles/teneur en fer des tiges

R_2 = Rapport teneur en fer des feuilles/teneur en fer des pétioles

V = Variation (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire)

		I	II	V
Plantes indifférentes				
Ranunculus	R_1	2,44	2,55	+ 5
Anthyllis	R_1	2,35	3	+ 28
Eryngium	R_1	2,8	1,6	- 43
Galium	R_1	1,4	3,8	+ 170
Plantes sensibles				
St Emilion/41B	R_1	8,6	5,2	- 40
	R_2	8,6	2,5	- 71
Cornus	R_1	2,6	2,06	- 20
Lupinus	R_1	0,35	0,32	- 8
	R_2	0,75	0,32	- 57

3 - LE CUIVRE

Le sol calcaire renferme 40% de plus de cuivre que le sol granitique. Cet accroissement se retrouve dans la plupart des organes des plantes indifférentes.

Par contre il apparait en beaucoup plus faible importance de (+ 16 à + 20%) dans les tiges de Cornus et de Lupinus et dans les limbes de St Emilion/41 B. Tous les autres échantillons des espèces sensibles ont une teneur en cuivre réduite lorsqu'ils sont récoltés sur le sol calcaire. Bien que plus abondant dans le milieu, les plantes sensibles réduisent leur absorption en cuivre.

DISCUSSION

L'exposé de nos résultats expérimentaux montre que les plantes sensibles et les plantes résistantes à la chlorose calcaire peuvent se distinguer, d'une part : par certains caractères de leur composition minérale, d'autre part : par le sens et l'ampleur des modifications de cette composition minérale en présence d'un apport accru de calcaire actif dans le milieu.

1°) - La composition minérale :

Récoltées sur un même milieu, nous avons constaté que les teneurs globales en principaux cations sont en général plus faibles dans les limbes et surtout les tiges des plantes calcifuges.

Ces observations seraient à rapprocher de celles faites par WACQUANT (1969) sur des racines excisées. Cet auteur observe en effet, sur des taxons de la végétation naturelle, une certaine ségrégation des espèces, selon leur capacité d'échange cationique racinaire (CECR) et leur statut écologique. Il constate que les plantes calcifuges ont toutes des CECR faibles. Or, la CECR est en rapport direct avec la teneur en cations des végétaux.

Le fait que les plantes indifférentes présentent souvent, par rapport à leur masse de substance sèche, des teneurs en calcium plus élevées que les plantes calcifuges confirme les travaux d'ILJIN (1951-1952). Il pourrait s'expliquer simplement par leur plus grande richesse en éléments minéraux. Mais alors, dans ces conditions, nous devrions observer des phénomènes analogues en ce qui concerne le potassium et le magnésium. Or les résultats de nos analyses comparatives ne montrent pas des teneurs plus fortes de potassium et de magnésium chez les plantes indifférentes (comparées aux calcifuges).

Par conséquent, la richesse en calcium (par rapport au poids sec) d'une plante saine, peut constituer un des caractères de sa résitance à la chlorose calcaire.

L'analyse quantitative de chaque cation montre que, dans l'ensemble des limbes, les teneurs en calcium et en potassium sont fonction de la somme globale (S = K + Ca + Mg) des tissus. Lorsque S, augmente, le calcium s'accroît et le potassium diminue.

Cette constatation faite,au niveau des racines excisées,par WACQUANT (1969) peut donc être généralisée à l'ensemble des tissus non conducteurs de la plante. Elle peut être mise en rapport avec les propriétés d'échange cationique des racines et avec la théorie de MATTSON selon laquelle les plantes à fortes CECR absorbent préférentiellement les cations polyvalents tandis que celles à faibles CECR absorbent plutôt les cations monovalents.

Les manifestations de ces phénomènes d'échanges semblent toutefois moins nettes chez les plantes calcifuges. Les droites représentatives des variations de Ca et de K en fonction de S possèdent une pente plus faible que celles des espèces résistantes.

D'autre part, nous avons constaté également que,pour des teneurs globales en cations voisines, les limbes des espèces calcifuges renferment plus de calcium et moins de potassium que les limbes des plantes indifférentes. Cette constatation s'applique surtout pour des valeurs de $S \leqslant 200$ meq. Elle ne peut s'expliquer par l'effet de valence de MATTSON puisque les variations de S ne sont plus en jeu .

Etant donné que le contenu cationique d'une plante est fonction de sa CECR CROOKE W.A. et coll.,(1962) et dans la mesure où la CECR rend compte de la densité de la totalité des sites d'échanges cationiques au niveau de la membrane racinaire, nos résultats laissent supposer que pour un nombre identique de sites d'absorption, la fréquence des sites spécifiques du calcium serait plus élevée chez les plantes calcifuges, celle du potassium serait par contre plus grand chez les plantes indifférentes.

Ainsi, les teneurs préférentielles pour l'un ou l'autre de ces deux cations (Ca et K) ne peuvent pas s'expliquer uniquement par des différences de teneurs globales en minéraux. D'autres phénomènes, également liés aux caractères écologiques de ces plantes, doivent entrer en jeu.

2°) - Les modifications de cette composition minérale en présence d'un sol riche en calcaire

L'étude de ces modifications montre comment chaque plante réagit au calcaire. Dans les conditions de notre expérimentation, certaines variations paraissent liées au caractère sensible ou indifférent des espèces végétales.

Ainsi, face à un apport accru de bases échangeables dans le milieu et en particulier de calcaire actif :

- *La teneur* -

Les teneurs globales en principaux cations demeurent relativement constantes dans l'ensemble *des plantes indifférentes* . Ce comportement semble tout à fait normal. En effet, nous avons déjà signalé dans l'historique de ce travail, que la teneur globale en cations d'une plante est souvent considérée comme une constante génotypique peu influencée par le substrat nutritif.

Chez *les espèces sensibles* à la chlorose, certaines, tel que Cornus, St Emilion / 41 B, tendent à maintenir constante leur teneur globale en cations sans toutefois y parvenir comme le font les plantes "indifférentes". Par contre, les espèces connues pour leur grande sensibilité subissent de fortes perturbations dans leur composition minérale. Il est intéressant de souligner ici que l'augmentation de la teneur en cations offerte par le milieu se répercute beaucoup plus dans les tiges que dans les limbes. Les tissus assimilateurs seraient davantage protégés. Si, comme le considère VENEMA, le substrat ne fait varier la somme des cations d'un végétal que lorsque ce dernier a subi une altération métabolique, nous pouvons conclure que, sur terrain calcaire, les tiges présentent un comportement plus pathologique que les limbes.

- *Le calcium* -

Les plantes indifférentes contrôlent rigoureusement l'absorption du calcium. Le taux de cet élément dépend beaucoup plus de la richesse en cations de la plante elle-même (caractère génotypique) que des conditions nutritives dans lesquelles elle se trouve. Une augmentation de l'ordre de 216% de chaux échangeable dans le sol ne provoque pas un apport supplémentaire important de calcium dans l'ensemble de la plante. Souvent même le taux de cet élément diminue dans les parties aériennes.

L'étude du rapport Ca/K + Ca + Mg permet de constater que ces végétaux

n'exercent pas la même régulation à l'égard des trois principaux cations. Face à un apport accru de calcium dans le milieu, leurs parties aériennes opposent une plus grande résistance à l'entrée du calcium qu'à celle des deux autres éléments.

Sur sol calcaire *les plantes calcifuges* accumulent le calcium. Celui-ci est absorbé abondamment par les racines. Mais, alors que dans une plante saine, la majeure partie du calcium transportée par les vaisseaux, s'accumule dans le mésophylle et les cellules épidermiques RINGOET et coll.,(1968), chez ces espèces sensibles, il s'accumule dans les tiges. La répartition du calcium dans l'ensemble de la plante se trouve perturbée.

De telles conclusions s'appliquent à des plantes de familles différentes, récoltées comparativement dans des milieux naturels non chlorosant ou chlorosant. Bien que les variations observées dépendent de nombreux facteurs quantitativement différents, nos résultats, en ce qui concerne les variations du taux de Ca dans les divers organes des plantes calcifuges, confirment ceux obtenus par U. BOUSQUET (1971) sur des plantules de Lupinus luteus cultivées dans des conditions expérimentales rigoureusement contrôlées.

L'importante accumulation du calcium au niveau des tiges des plantes calcifuges récoltées sur milieu chlorosant semble donc être un phénomène strictement lié au caractère "calcifuge" de ces plantes.

- *Le potassium* -

Les variations des teneurs et des proportions du potassium ne permettent pas, à première vue, de distinguer les plantes à écologie différente . En effet, nous avons vu, qu'un apport accru de calcaire dans le milieu provoque une augmentation de la proportion du potassium dans l'ensemble des limbes. Cette observation est d'ailleurs en accord avec les travaux de JACOBSON et coll. (1961) qui constatent que le calcium accroît la sélectivité des racines en faveur du potassium.

Toutefois, le fait que les plantes calcifuges augmentent sur terrain calcaire, leur proportion de potassium, alors que dans ces plantes le calcium pénètre abondamment, montre combien la teneur préférentielle en potassium est accrue. Nos analyses laisseraient donc penser qu'en présence d'un sol calcaire, les plantes calcifuges présentent une perméabilité beaucoup plus grande vis à vis du potassium qu'à l'égard des autres cations.

- *Le magnésium* -

L'étude des variations des teneurs en magnésium des limbes (par

vis à vis des autres cations,montre les différences de comportement entre les plantes indifférentes et les plantes sensibles.

Face à un apport accru de calcaire dans le milieu,la plupart des *plantes indifférentes* présentent une teneur préférentiellement accrue vis à vis du magnésium (augmentation du rapport Mg/K + Ca + Mg). Ce dernier migre surtout dans les limbes.

Par contre, chez les *espèces calcifuges* la diminution du rapport Mg/K + Ca + Mg nous permet de penser que ces végétaux se laissent moins facilement envahir par le magnésium que par les autres cations. Chez le Lupin blanc, il s'accumule en grande partie dans les tiges,modifiant ainsi sa répartition dans l'ensemble de la plante.

Ces résultats sont partiellement en accord avec ceux de SALSAC (1969). Cet auteur étudiant la cinétique de l'absorption du magnésium par des racines excisées de jeunes plantules calcicole ou calcifuge observe que l'absorption de cet élément est plus importante chez l'espèce calcifuge que chez la calcicole. Il constate également que la présence de calcium dans le milieu supprime l'absorption du magnésium. Le calcium jouerait d'après cet auteur, un rôle important dans la régulation de l'absorption des autres cations.

Les conditions de notre expérimentation ne nous permettent pas de constater une absorption du magnésium plus élevée chez les plantes calcifuges mais, nous avons constaté par ailleurs, que ces plantes présentaient des teneurs en calcium (en % de mat. sèche) moins élevées que les plantes indifférentes. L'absorption et par suite la teneur en magnesium dans les plantes seraient liées à celles du calcium. Ainsi, la teneur préférentiellement accrue de magnesium observée chez les plantes "indifférentes" récoltée sur sol calcaire, serait en rapport avec leur diminution du taux de calcium. Par contre le phénomène inverse constaté chez les plantes calcifuges serait lié à l'augmentation des teneurs en calcium de leurs tissus. Ici encore, les phénomènes de transport du magnésium de la racine vers les parties aériennes mériteraient d'être étudiés.

- *Le cuivre* -

Parmi les variations des oligo-éléments celles du cuivre nous ont enfin paru très significatives.

Les plantes indifférentes ne semblent pas s'opposer à un apport accru de cuivre dans le milieu. Le taux de cet élément augmente dans la plupart des tissus.

Par contre *les plantes calcifuges* réduisent leur absorption de cuivre

lorsqu'elles poussent sur sol calcaire. Ces modifications paraissent réellement liées au caractère calcifuge des espèces. Elles confirmeraient, par ailleurs, les déductions de BROWN et coll. (1952-1953). Les plantes qui répondent mal au cuivre sont, d'après ces auteurs, plus sensibles à la chlorose calcaire. Plus récemment SPITHOST L.S. (1969) attribue la chlorose des jeunes plants de tomate à une carence en cuivre. D'autre part, il est actuellement connu, que le cuivre favorise l'accumulation de la chlorophylle dans les feuilles et ralentit sa destruction à l'obscurité. SOLOV'ENA E.A et coll. (1960). Les perturbations de son absorption ou de son transport,observées chez les plantes calcifuges récoltées sur sol calcaire,pourraient être en relation avec le jaunissement des feuilles.

Cette étude comparative, faite en grande partie sur une végétation spontanée récoltée simultanément sur sol pauvre ou riche en calcaire nous a permis de mettre en évidence un certain nombre de différences entre les plantes résistantes ou non à la chlorose calcaire.

Les raisons de ces divergences sont recherchées dans de nombreux domaines. Etant donné l'importance du rôle des acides organiques dans la nutrition minérale et l'équilibre ionique des végétaux, une étude parallèle de la composition en acides organiques de ces plantes et des modifications de leur métabolisme en fonction d'un sol calcaire pourrait contribuer à élucider les raisons du caractère "calcicole" ou "calcifuge" de certains végétaux.

CHAPITRE III

"LES EFFETS DU CALCAIRE SUR L'ACIDITE ORGANIQUE"

Les acides organiques jouent un rôle essentiel dans la vie des végétaux. Par leur teneur globale, ils assurent, avec les anions et les cations minéraux, les divers équilibres ioniques de la plante, ils maintiennent une certaine pression osmotique et la stabilité du pH. Ils constituent, d'autre part, des métabolites intermédiaires dans de nombreuses voies de synthèse et de dégradation.

Toute variation dans la composition en ces substances est susceptible de modifier profondément l'un ou l'autre de ces grands processus physiologiques.

Nous considèrerons tout d'abord les effets d'un sol riche en calcaire sur l'acidité organique totale et nous envisagerons ensuite l'étude des composés qui interviennent dans cette acidité.

A - L'ACIDITE ORGANIQUE TOTALE

La teneur de l'ensemble des acides organiques d'une plante varie en fonction du milieu nutritif. Nous l'avons mesurée dans les limbes de quelques végétaux récoltés sur sol pauvre en calcaire (I) et sur sol riche en calcaire (II). Les résultats de nos analyses figurent dans le tableau IX.

Comme on pouvait s'y attendre après les premiers travaux d'ILJIN (1951), nous constatons que la chlorose calcaire s'accompagne d'une augmentation de la teneur globale en acides organiques des feuilles. L'accroissement atteint 60% dans les limbes du Lupin.

Mais nous avons constaté également une acidification presque aussi importante (de l'ordre de 54%) dans les limbes d'Eryngium récoltés sur

terrain calcaire. Sur ce même sol, les feuilles d'Hypericum accroissent leur teneur globale en acide de 41%, celles d'Achillea de 32%. Or toutes ces plantes ne présentent aucun signe de chlorose.

Le calcaire actif du sol a donc pour effet d'augmenter l'acidité organique totale des végétaux quels que soient leurs caractères écologiques.

TABLEAU IX

ACIDITE ORGANIQUE TOTALE DES LIMBES DE QUELQUES PLANTES RECOLTEES SUR SOL PAUVRE EN CALCAIRE (I) OU SUR SOL RICHE EN CALCAIRE (II)

(exprimée en meq/100 g frais)

V = Variation relative (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire)

	I	II	V
Achillea millefolium	23,9	31,7	+ 32
Eryngium campestre	27,4	41,8	+ 54
Hypericum perforatum	24,4	34,3	+ 41
Lavandula staechas	21,5	-	
Lavandula latifolia	-	23	
Lupinus albus	19	30,4	+ 60

Nous nous sommes alors demandé si les modalités des réactions métaboliques qui sont à l'origine de cette acidification sont les mêmes chez les espèces sensibles et chez les espèces indifférentes à la chlorose calcaire.

Pour répondre à cette question nous avons essayé de déterminer quels étaient les acides organiques intervenant dans cette réaction physiologique.

B - LES DIVERS ACIDES ORGANIQUES

L'analyse d'un nombre relativement élevé d'organes et de plantes de familles différentes, présente une grande diversité en ce qui concerne la nature et la teneur des acides organiques mis en évidence.

- Certains acides tels que les acides citrique, malique, malonique sont présents en plus ou moins grande quantité dans l'ensemble des plantes analysées ici.

- D'autres n'existent qu'à de faibles taux. Il s'agit des acides succinique, fumarique, glycérique, quinique et shikimique. Seuls les deux derniers de ces composés seront envisagés dans ce chapitre.

- D'autres enfin, ne se rencontrent que chez certaines espèces, tel l'acide tartrique dans la Vigne et le Galium, tel l'acide oxalique dans Achillea, Hypericum et Eryngium.

Bien que cette classification ne corresponde évidemment pas aux différentes voies du métabolisme des acides organiques des plantes, nous l'utiliserons pour exposer avec plus de facilité les résultats expérimentaux obtenus.

I - LES ACIDES CITRIQUE, MALIQUE ET MALONIQUE

Nous avons comparé les proportions des acides citrique, malique et malonique dans plusieurs espèces récoltées sur sol pauvre ou riche en calcaire échangeable (tableau X et figure 4).

a) - *L'acide citrique* est relativement abondant dans les plantes indifférentes où il représente de 14 à 30% du total des acides. L'augmentation du taux de calcaire actif dans le sol affecte peu la proportion d'acide citrique des limbes d'Achillea, par contre, celle-ci diminue de 6 à 15% dans les feuilles de Galium, Draba et Eryngium et de 25% dans les racines d'Achillea.

Chez les espèces sensibles, en dehors des organes de réserve tel que les cotylédons, l'acide citrique ne représente qu'un faible pourcentage de l'ensemble des acides : de 1 à 13% seulement. Cette proportion augmente nettement lorsque ces végétaux poussent sur un sol calcaire. Elle arrive à doubler dans certains tissus (racines de Lupin).

Enfin, sans vouloir comparer des plantes botaniquement très voisines mais écologiquement différentes, il est intéressant de souligner ici que la proportion de l'acide citrique est beaucoup plus importante chez les espèces calcicoles (28,2% dans Lavandula latifolia ; 23,5% dans Spartium junceum) que chez les espèces calcifuges (14,5% dans Lavandula staechas et 15% dans Sarothammus scoparius).

b) - *L'acide malique* diffère énormément en proportion d'un végétal à l'autre. S'il représente la majorité de l'acidité organique des limbes d'Achillea (74%) son pourcentage est au contraire réduit à 19,2% dans le Sarathammus.

Un apport accru de calcaire actif dans le milieu affecte les teneurs en acide malique : celui-ci augmente, mais, ses proportions à l'égard des autres acides restent sensiblement les mêmes. Les variations observées sont

TABLEAU X

ACIDES CITRIQUE, MALIQUE ET MALONIQUE DE QUELQUES PLANTES RECOLTEES SIMULTANEMENT SU

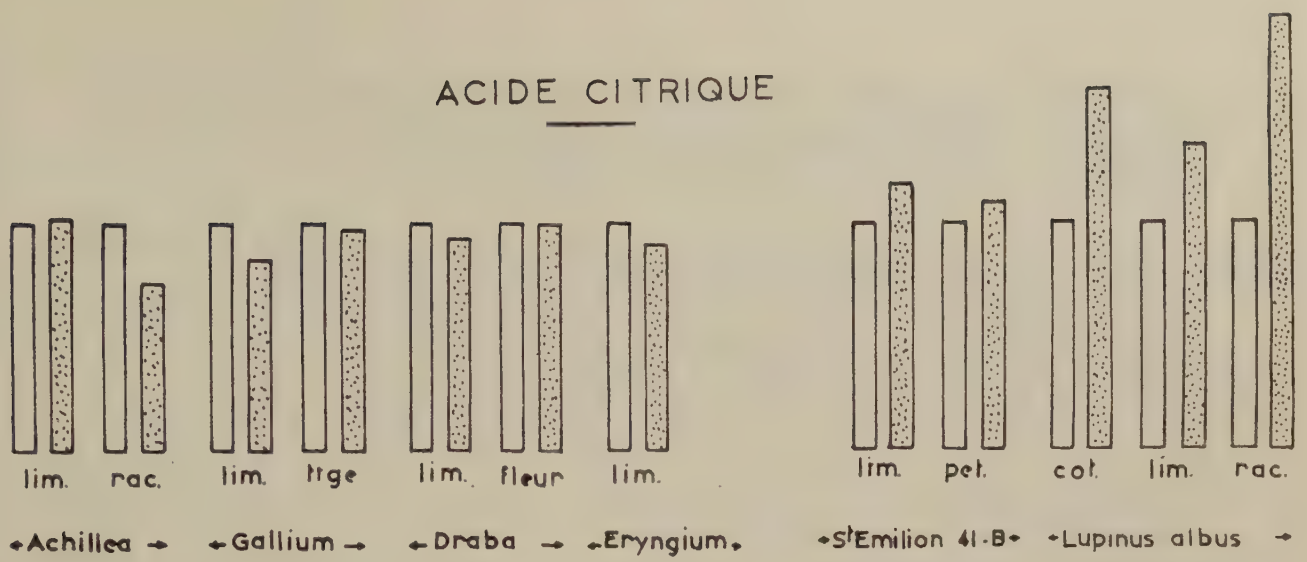
SOL PAUVRE EN CALCAIRE (I) OU SUR SOL RICHE EN CALCAIRE (II)

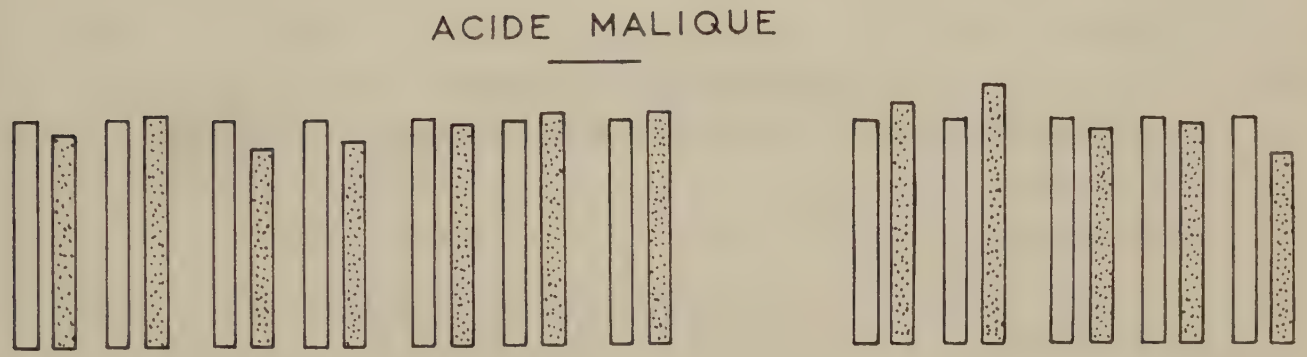
(exprimée en % de l'acidité organique totale)

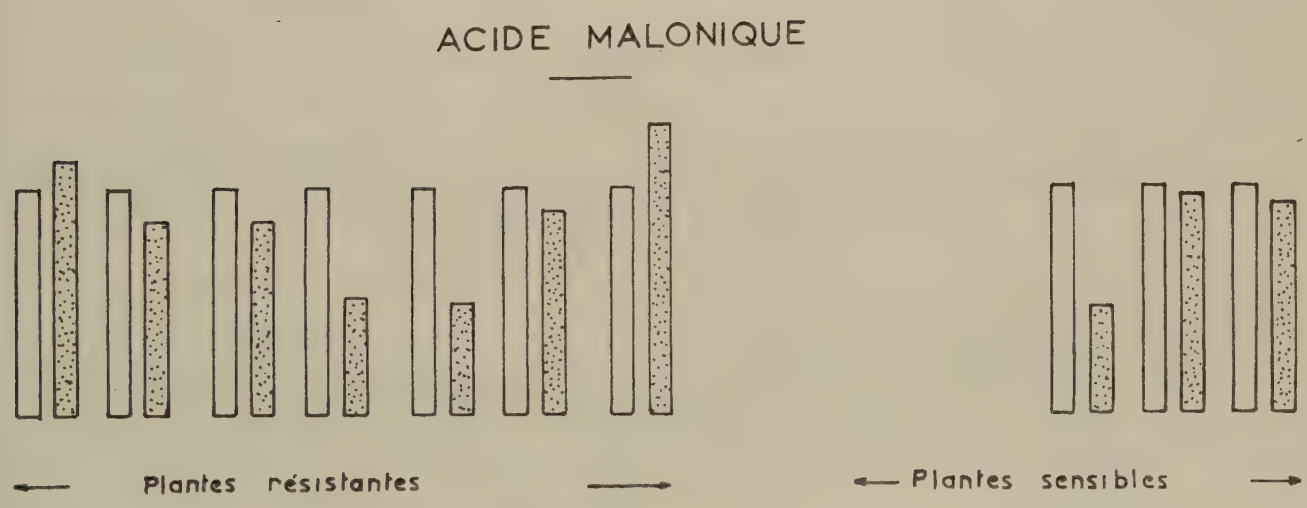
V = Variation relative (exprimée en %) par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire)

	citrique			Malique			Malonique		
Espèces indifférentes	I	II	V	I	II	V	I	II	V
Achillea millefolium									
limbes	14	14,2	+ 1,5	74	70	- 5	2,7	3	+ 11
racines	26	19,5	- 25	48	49	+ 2	3,6	3,1	- 14
Galium erectum									
limbes	23	19,5	- 15	59	52,2	- 11	1,1	1,5	+ 36
tiges	19	18,5	- 2,5	52	47,5	- 9	4,7	2,4	- 49
Draba verna									
limbes	14	13,1	- 6	49	48	- 2	1	0,5	- 50
Eryngium campestre									
limbes	30	27,4	- 9	65	67	+ 3	2,2	2,8	+ 27
Espèces sensibles									
Vitis- St Emilion/41B									
limbes	1,8	2,1	+ 17	71	76	+ 7			
pétioles	1,2	1,3	+ 8	51,5	59,5	+ 15			
Lupinus albus									
cotylédons	27,3	42	+ 54	50	47	- 6	18,8	9	- 52
limbes	3,3	4,4	+ 33	92,2	91	- 1	2,7	2,6	- 3,
racines	13,7	26	+ 90	69	58,4	- 15	13,3	12,3	- 7,
Espèces caractéristiques									
Lavandula staechas									
limbes	14,5			34,2			7,8		
Lavandula latifolia									
limbes		28,2			31,6			6,7	
Sarothamnus scoparius									
tige chlorophyllienne	15			19,2			62		
Spartium junceum									
tige chlorophyllienne		23,6			23,8			48,6	

Fig. 4







— VARIATION du TAUX des ACIDES par rapport au TEMOIN —

témoin (cultivé sur sol pauvre en calcaire) = 100

essais (cultivé sur sol riche en calcaire)

de faible amplitude (+ 15%) et ne paraissent pas liées au caractère "sensible" ou "indifférent" des espèces.

c) - Les pourcentages *d'acide malonique* sont aussi très dissemblables suivant le matériel végétal considéré. Ce composé abonde dans les tiges chlorophylliennes de Sarothammus où il atteint 62% par contre, il ne représente que 0,5 à 1% des acides de la feuille de Draba.

Le calcaire a pour effet de modifier nettement les proportions de l'acide malonique vis à vis des autres acides. Comparées aux plantes témoin, les proportions de ce composé varient de - 50% à + 36%. Toutefois le sens et l'ampleur de ces variations ne sont pas caractéristiques des divers groupes phyto-écologiques.

2 - LES ACIDES SHIKIMIQUE ET QUINIQUE

a) *L'acide shikimique* a été dosé dans les limbes de deux espèces sensibles à la chlorose calcaire :
Vitis vinifera (variété St Emilion/41 B) et Lupinus albus.

Les résultats de nos analyses (tableau XI) montrent que la teneur en acide shikimique diminue lorsque ces deux espèces sont cultivées sur un sol riche en calcaire. Ce phénomène est plus accentué dans la plante la plus ligneuse. (La Vigne).

TABLEAU XI

INFLUENCE D'UN SOL RICHE EN CALCAIRE SUR LES TENEURS EN ACIDES SHIKIMIQUE ET QUINIQUE DE QUELQUES PLANTES

(exprimée en meq/100 g frais)

I = sol pauvre en calcaire
II = sol riche en calcaire
V = variation relative (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire)

	shikimique			quinique		
Limbes de :	I	II	V	I	II	V
St Emilion / 41 B	0,70	0,10	- 86	0,30	0,10	- 67
Lupinus albus	0,13	0,11	- 15	0,37	0,02	- 94
Ranunculus bulbosus				1,8	2,50	+ 39
Galium erectum				0,5	0,75	+ 50

b- *L'acide quinique* a été analysé chez deux espèces indifférentes à la chlorose calcaire : Ranunculus bulbosus et Galium erectum et chez deux espèces sensibles : Vitis vinifera (variété St Emilion.41 B) et Lupinus albus. (tableau XI).

Les effets d'un terrain calcaire sur le métabolisme de l'acide quinique diffèrent selon la sensibilité de l'espèce vis à vis du calcaire.

Trouvé en quantité relativement importante dans Ranunculus bulbosus (1,8 meq/100 g frais) il augmente lorsque cette plante est récoltée sur sol calcaire (2,5 meq) (soit une variation relative de + 39%). Ce phénomène est encore plus accentué dans le Galium erectum. Chez ce dernier, le taux d'acide quinique passe de 0,5 à 0,75 meq/100 g frais, ce qui représente une augmentation de 50%.

Par contre dans les espèces sensibles, le calcaire actif du sol a pour effet de diminuer la teneur en acide quinique. Cette dernière baisse de 67% dans la Vigne St Emilion.41 B. De même, présent dans le Lupin sain (0,22 meq) l'acide quinique disparait presque totalement lorsque cette plante est cultivée sur sol calcaire.

3 - LES ACIDES TARTRIQUE ET OXALIQUE

a) *L'acide tartrique* abonde dans le Galium et la Vigne. Le sol calcaire provoque une augmentation du pourcentage de cet acide chez ces deux plantes. Lorsque le Galium est récolté sur le sol témoin granitique, l'acide tartrique représente 6,7% de l'acidité organique totale : sur terrain calcaire la proportion atteint 19%, ce qui représente une variation relative de + 180%.

Les échantillons de Vigne prélevés sur le sol calcaire présentent aussi un accroissement du pourcentage de l'acide tartrique (30 à 40% environ).

b) *L'acide oxalique* joue un rôle important dans l'acidité de certaines espèces végétales. Il est relativement abondant dans les limbes d'Achillea, d'Hypericum et d'Eryngium. Le tableau XII indique les teneurs en acide oxalique de ces plantes et les variations en fonction du sol calcaire.

TABLEAU XII

INFLUENCE D'UN SOL RICHE EN CALCAIRE SUR LES TENEURS EN ACIDE OXALIQUE DE QUELQUES PLANTES

(exprimée en meq. 100g frais)

I - Sol pauvre en calcaire
II - Sol riche en calcaire

V - Variation relative (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur le sol pauvre en calcaire)

Limbes de :	I	II	V
Achillea millefolium	3,9	8,5	+ 118
Hypericum perforatum	0,9	2,5	+ 173
Eryngium campestre	4,6	12,3	+ 168

Nous pouvons constater chez ces espèces "indifférentes" une augmentation importante du taux d'acide oxalique lorsque le milieu de culture s'enrichit en calcaire échangeable.

Discussion

D'une façon générale, un apport accru du calcaire actif dans le milieu, provoque une augmentation de l'acidité organique totale dans les limbes de la plupart des plantes. Il est possible que l'ampleur de cette réaction soit liée au degré de sensibilité des espèces à l'égard du calcium, mais, d'après nos résultats, ce serait plutôt les modalités et les conséquences de cette accumulation d'acides qui caractériseraient et différencieraient les plantes "sensibles" des espèces "indifférentes".

Chez *les plantes indifférentes*, ce sont surtout les acides oxalique, shikimique, quinique, tartrique et malique qui sont responsables de l'accroissement de l'acidité organique.

Le rôle de l'acide oxalique semble important à considérer. Il est connu depuis longtemps que ce composé intervient d'une manière particulière dans le métabolisme du calcium DUNNE (1932)- OLSEN (1939) il se combine en grande partie avec ce cation et se dépose sous forme insoluble d'oxalate. D'autre part, les acides oxalique, quinique et tartrique sont classiquement considérés en physiologie végétale comme des formes de réserve. Ils peuvent s'accumuler dans la cellule sans pour cela traduire des perturbations du métabolisme acide de la plante.

Les plantes calcifuges, en présence d'un apport accru de calcaire actif, augmentent également leur acidité organique globale mais les réactions

métaboliques, qui sont en cause, diffèrent :

dans les échantillons analysés ici, ce sont essentiellement les acides citrique et malique qui s'accumulent. Chez d'autres espèces calcifuges, D.RHOADES et coll.,(1959) ont constaté un accroissement des teneurs en acides fumarique et isocitrique.

Par contre, nous avons remarqué une diminution des acides shikimique et quinique. D'autre part, une baisse des teneurs en acide oxalique a été signalé par ILJIN (1951).

Si l'on rapproche toutes ces données, il apparait que les plantes sensibles cultivées sur un sol calcaire ne sont pas capables d'accumuler les mêmes acides organiques que les plantes indifférentes. L'acidification des plantes calcifuges est dûe essentiellement aux acides du cycle tricarboxylique.

DEUXIEME PARTIE

LES EFFETS DU CO_3Ca SUR LA PHYSIOLOGIE D'UNE PLANTE CALCIFUGE: LUPINUS ALBUS

INTRODUCTION

L'étude de la physiologie normale d'un végétal peut être abordée d'une part par sa courbe de développement, d'autre part par l'évolution des teneurs en composés minéraux et organiques dans chacun de ses organes.

Une maladie physiologique comme la chlorose calcaire pourra donc se traduire par des anomalies de son développement et par une déviation de certains métabolismes : les variations, en fonction du temps, du taux des divers constituants dans les différents organes, seront donc perturbées et l'importance de cette perturbation sera fonction de la gravité de l'état pathologique.

Ainsi, pourra-t-on étudier les conséquences de cette maladie en observant les effets d'un sol riche en calcaire sur l'évolution de ces symptômes.

Nous avons mis en évidence, dans la première partie de ce travail, certaines variations minérales et organiques liées au degré de sensibilité de la plante à l'égard du calcaire. Nous allons essayer de déterminer maintenant où et à quel moment ces perturbations se produisent chez le Lupinus albus, comment elles modifient la physiologie de la plante.

Nous montrerons d'abord les conséquences d'un milieu riche en CO_3Ca sur le développement général du Lupin. Nous étudierons ensuite les perturbations apportées dans la nutrition minérale, la synthèse et l'utilisation des glucides de la plante. Nous envisagerons enfin l'étude des composés faisant partie du métabolisme intermédiaire : les acides organiques et les acides aminés.

CHAPITRE I

MATERIEL ET METHODES

Nous n'exposerons ici que le matériel et les techniques utilisées pour la deuxième partie de ce travail.

A - MATERIEL

1 - LES MILIEUX DE CULTURE

Dans la plupart des cas, il y a corrélation entre le taux élevé de calcaire du sol et l'apparition de la chlorose, mais il est bien connu que d'autres facteurs peuvent intervenir. Certains proviennent des sols (teneurs excessives en phosphate, Cu, Zn, Mn, azote nitrique, irrigation trop abondante, etc...) d'autres du climat ou du microclimat (luminosité, température, humidité, etc...).

Pour procéder à une étude rigoureuse des conséquences physiologiques d'une nutrition riche en calcaire sur une plante sensible à la chlorose, il est indispensable de réaliser des cultures sur milieux synthétiques dans des conditions de lumière, de température et d'humidité artificielles. Mais alors il est difficile d'affirmer que la plante présentera, même dans les essais témoin, un comportement identique à celui qui aurait été le sien dans les conditions naturelles. C'est pourquoi, nous avons retenu pour cette expérimentation les deux sortes de culture :

- dans des conditions naturelles
- en milieux artificiels.

a) *Les cultures en milieux naturels*

Leurs caractéristiques ont été énoncées au chapitre I de la première partie de ce travail (p. 13 C : cultures en pots).

b) *Les cultures en milieux artificiels*

Le sable siliceux d'Antibes a été choisi comme support car sa granulométrie permet d'obtenir une bonne aération des racines. Nous l'avons préalablement lavé à l'acide chlorhydrique et rincé à l'eau déminéralisée.

Le milieu chlorosant est obtenu en mélangeant au sable du carbonate de calcium (7% en volume).

Les cultures, témoin et essais sont arrosées quotidiennement avec des volumes identiques de solution I d'HOAGLAND-ARNON .Cette solution d'éléments majeurs est complétée par des oligo-éléments : solution I de CHOUARD (Aquiculture M.V. HOMES, 1953).

Le pH des solutions nutritives,après avoir traversé les pots de culture,est de 6,8 pour les cultures témoins et de 7,3 pour les pots contenant le CO_3Ca.

Les cultures sont éclairées 13 heures sur 24 par des tubes fluorescents Philips "lumière du jour" qui fournissent un éclairement de 6000 lux au niveau des feuilles.

La température est maintenue pratiquement constante à 21° ± 1°C.

2 - LE MATERIEL VEGETAL

Nous avons choisi le Lupinus albus, plante de la famille des légumineuses, très connue pour sa sensibilité à la chlorose calcaire. La variété "gyulatanyai édes de Hongrie" a été utilisée. Les graines appartenant toutes à un même clone sont homogènes et donnent des individus à variabilité restreinte.

B - TECHNIQUES ANALYTIQUES

1 - ETUDE QUALITATIVE

L'identification des acides organiques, des acides aminés libres et des glucides solubles, est faite par chromatographie descendante mono et bidimensionnelle sur papier Arches 302 en adoptant les solvants et les révélateurs classiques (LEDERER 1959 ; CARLES et coll., 1958)

2 - ETUDE QUANTITATIVE

a) *Mesure de la croissance*

La croissance d'une plante annuelle comme le Lupin est toujours accompagnée d'une augmentation de poids. Pendant la période comprise entre la germination et la floraison, son étude peut être basée sur des pesées de substances fraiches et de substances sèches. Les poids frais sont déterminés par pesée directement après le prélèvement des échantillons. Les poids secs sont mesurés après dessiccation jusqu'à poids constant, de 10 organes. On utilise pour cela une étuve sous pression réduite, contenant du Cl_2Ca et à la température du Laboratoire.

b) *Dosage des éléments minéraux*

c) *Dosage des acides organiques*

L'ensemble de ces déterminations ont été décrites dans la première partie de ce travail p.16 paragraphe a) et b).

d) *Dosage des glucides solubles*

Les divers échantillons de l'ordre de 1 g frais, sont pesés, fixés dans l'eau distillée bouillante pendant 15 mn, puis broyés à l'ultra turax. Le broyat est ensuite porté pendant 20 minutes au bain marie à 100°C. Après filtration, la solution est déféquée par l'acétate neutre de plomb L'excès de plomb est ensuite éliminé par H_2S.

1°) - Les glucides réducteurs sont déterminés selon la méthode de J. CARLES (1953) dont le principe est le suivant : une partie du cuivre de la liqueur cuprotartrique est réduite à l'état d'oxyde cuivreux par les oses. Cet oxyde est solubilisé par la liqueur phosphomolybdique dont le molybdène réduit est dosé par le permanganate de potassium N/140.

2°) - Les glucides totaux : L'hydrolyse acide est faite en portant la liqueur à pH = 2 par addition de HCl et en laissant 10 mn au bain marie bouillant. Après refroidissement et neutralisation par NaOH, la liqueur est dosée selon la même méthode. Dans ces conditions l'hydrolyse du saccharose est totale.

3°) - Le mannoheptulose : l'isolement et l'identification de ce glucide sont faites par chromatographie préparative sur papier selon la

méthode de F.A. Mc COMB et V.V. RENDIG (1961).

La détermination quantitative est réalisée selon la méthode colorimétrique de KRAJANSKIJ (1961) par l'orcinol en milieu trichoracétique

e) *Dosage des acides aminés*

Séparé par chromatographie sur colonne de résines, chaque acide aminé est ensuite dosé colorimétriquement à la ninhydrine à l'aide d'un autoanalyseur technicon (Méthode Moore et Stein).

f) *Dosage des pigments*

L'extraction des pigments se fait sur du matériel frais, à l'abri de la lumière et à 0°C. Les feuilles sont broyées dans un mortier en présence de sable et d'acétone, le solvant est renouvelé et les broyages continués jusqu'à l'obtention de fractions incolores. Après centrifugation la solution extractive est recueillie, son volume est mesuré et on ajoute de l'eau pour avoir une solution acétonique à 80%.

Le dosage est fait au spectrophotomètre Beckman. Les concentrations en chlorophylle a et b exprimées en g/l sont données par les formules de Mc KINNEY (1941)

CHAPITRE II

EFFETS D'UNE NUTRITION RICHE EN CO_3Ca SUR LE DEVELOPPEMENT DE LUPINUS ALBUS

Chez les plantes annuelles, pendant la période comprise entre la germination et la floraison, l'augmentation de la masse de substance fraîche et de substance sèche peut être considérée comme un des reflets de la croissance de la plante. Toutefois, si l'on veut utiliser ces paramètres pour étudier les effets du CO_3Ca sur le développement du Lupinus albus, il est important de savoir dans quelle mesure le CO_3Ca perturbe l'état hydrique de cette plante.

C'est pourquoi, après avoir précisé le déroulement de la croissance normale du Lupin, nous observerons les effets du calcaire sur la teneur en eau des différents organes de cette plante et nous envisagerons enfin les répercussions sur son développement général.

A - DEVELOPPEMENT NORMAL DU LUPINUS ALBUS

Quant on met à germer une graine de Lupin dans les conditions de milieux artificiels (chapitre I, paragraphe A-b), la plantule sort de terre au bout de 8 jours. Les cotylédons verdissent rapidement et les deux premières feuilles apparaissent au bout d'une quinzaine de jours après la mise en germination. Les autres se développent ensuite successivement jusqu'au nombre de 10 à 12. La chute des cotylédons a lieu en général, à l'apparition des 6ème et 7ème feuilles

Le développement de chaque nouvelle feuille correspond à un stade de végétation. Nous pouvons considérer que plusieurs plantules de Lupin sont

à un même âge physiologique lorsqu'elles développent par exemple leur troisième feuille.... Nous nous servirons donc du nombre de feuilles pour déterminer la date de nos prélèvements. Ainsi, "le stade 6F" désignera une plante récoltée lorsque ses six premières feuilles sont développées à des degrés différents et lorsque la 7ème est visible à la partie supérieure de la plante mais n'a pas encore étalé ses folioles.

La figure 5 représente la courbe de croissance du Lupin. Son allure est typique de celle des végétaux supérieurs. Pendant toute la période cotylédonaire la plante grandit lentement, elle passe ensuite par une phase de développement intense. Au bout de 10 semaines environ, le Lupin atteint sa taille maximale, c'est le moment de la floraison.

B - INFLUENCE DU CO_3Ca SUR L'ETAT HYDRIQUE DU LUPIN

Le pourcentage d'eau par rapport au poids total, a été étudié comparativement sur des cultures saines et des cultures chlorosées.

Les principaux résultats rassemblés dans le tableau XIII montrent que le pourcentage d'eau par rapport au poids total est assez élevé, il se situe aux environs de 90%. Jusqu'au stade 10-12 feuilles, la présence de CO_3Ca dans le milieu affecte peu la teneur en eau des tissus.

En effet, les limbes du Lupin chlorosé présentent une faible déshydratation (de l'ordre de 5%) uniquement en fin de culture lorsque la plante est déjà adulte. Les tiges semblent être plus hydratées. Les teneurs en eau des racines ne varient pratiquement pas.

TABLEAU XIII

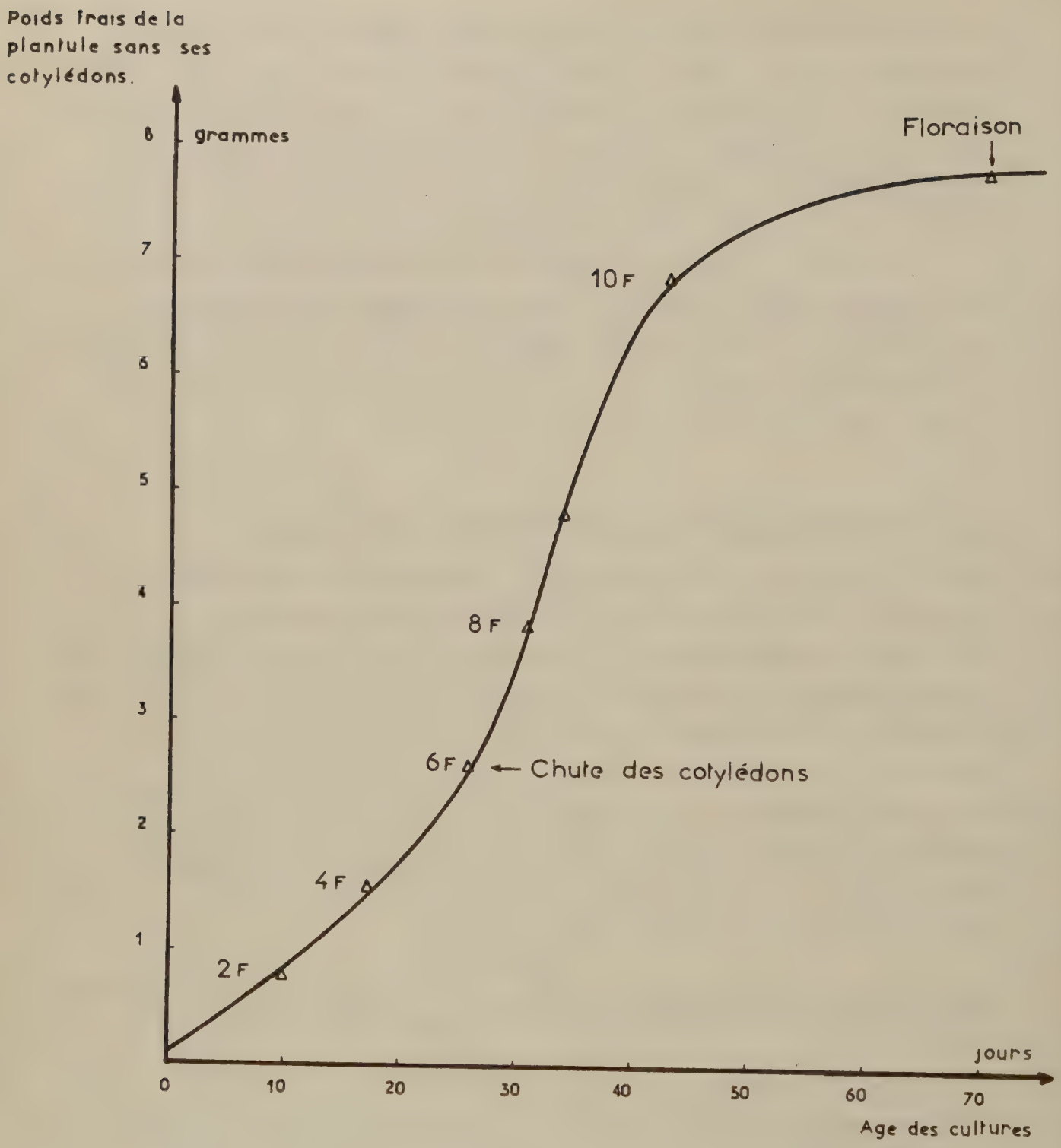
TENEUR EN EAU DES DIFFERENTES PARTIES DU LUPIN AU COURS DE SON DEVELOPPEMENT

(exprimée en % du poids frais)

I : sur milieu témoin non chlorosant
II : sur milieu chlorosant

Age des cultures / Stade de végétation	17 jours 4 feuilles		26 jours 6 feuilles		31 jours 8 feuilles		43 jours 10-12 feuilles	
	I	II	I	II	I	II	I	II
limbes	88	88	88	90	88,5	88,5	87,5	83
tiges	91	91,5	91,5	94,5	92	93	88,5	91
racines	93	92,5	90	94	94	94	92,5	92,5

Fig. 5



DEVELOPPEMENT du LUPIN

C - ACTION DU CO_3Ca SUR LE DEVELOPPEMENT DU LUPIN

Le tableau XIV et la figure 6 montrent l'évolution comparative de la masse de substance fraîche et de substance sèche chez les deux sortes de culture (saine ou chlorosée).

Tant que la plante garde ses cotylédons, la nutrition riche en CO_3Ca modifie peu le développement du Lupin (figure 6). On observe seulement, au stade 6 feuilles, une diminution de la masse de substance fraiche de l'ordre de 5%. Ce n'est qu'après la chute des cotylédons, que les sujets témoins se développent rapidement alors que les plantes chlorosées restent stationnaires. Les cultures âgées de 43 jours présentent, sur milieu chlorosant, une croissance bien ralentie par rapport à celle des cultures témoins. La masse de substance fraîche des limbes est réduite de 68%, celle des tiges de 35% et celle des racines de 57%.

Cette dernière constatation montre combien les effets du CO_3Ca sur le développement du Lupin sont importants : celui des limbes et des racines parait le plus perturbé.

Il est intéressant de noter également que le premier symptôme apparent de la chlorose : le jaunissement des feuilles se produit avant le ralentissement de la croissance générale de la plante.

Discussion - Conclusion :

Dans bien des cas pathologiques la comparaison de la composition analytique entre organe sain et organe malade doit tenir compte des différences souvent importantes de la teneur en eau des tissus. Ceci est particulièrement vrai pour les organes à croissance rapide.

Il est pour nous d'un grand intérêt de constater que la richesse hydrique des tissus chlorotiques ne présente de modification que tardivement, lorsque le Lupin atteint sa taille adulte. Même alors, cette modificiation demeure relativement faible.

Dans le cadre de notre expérimentation, la teneur en eau des tissus s'avère donc comme l'un des critères les moins perturbés par l'état chlorotique. Il sera par conséquent indifférent de rapporter nos résultats au poids frais ou au poids sec.

La présence de CO_3Ca dans le milieu de culture modifie peu la croissance de la plante pendant la période cotylédonaire. Ce n'est qu'après la chute des cotylédons et avant la floraison que les cultures chlorosées présentent un important ralentissement de leur développement. Or, le jaunissement des limbes, premier symptôme apparent qui traduit une perturbation

TABLEAU XIV

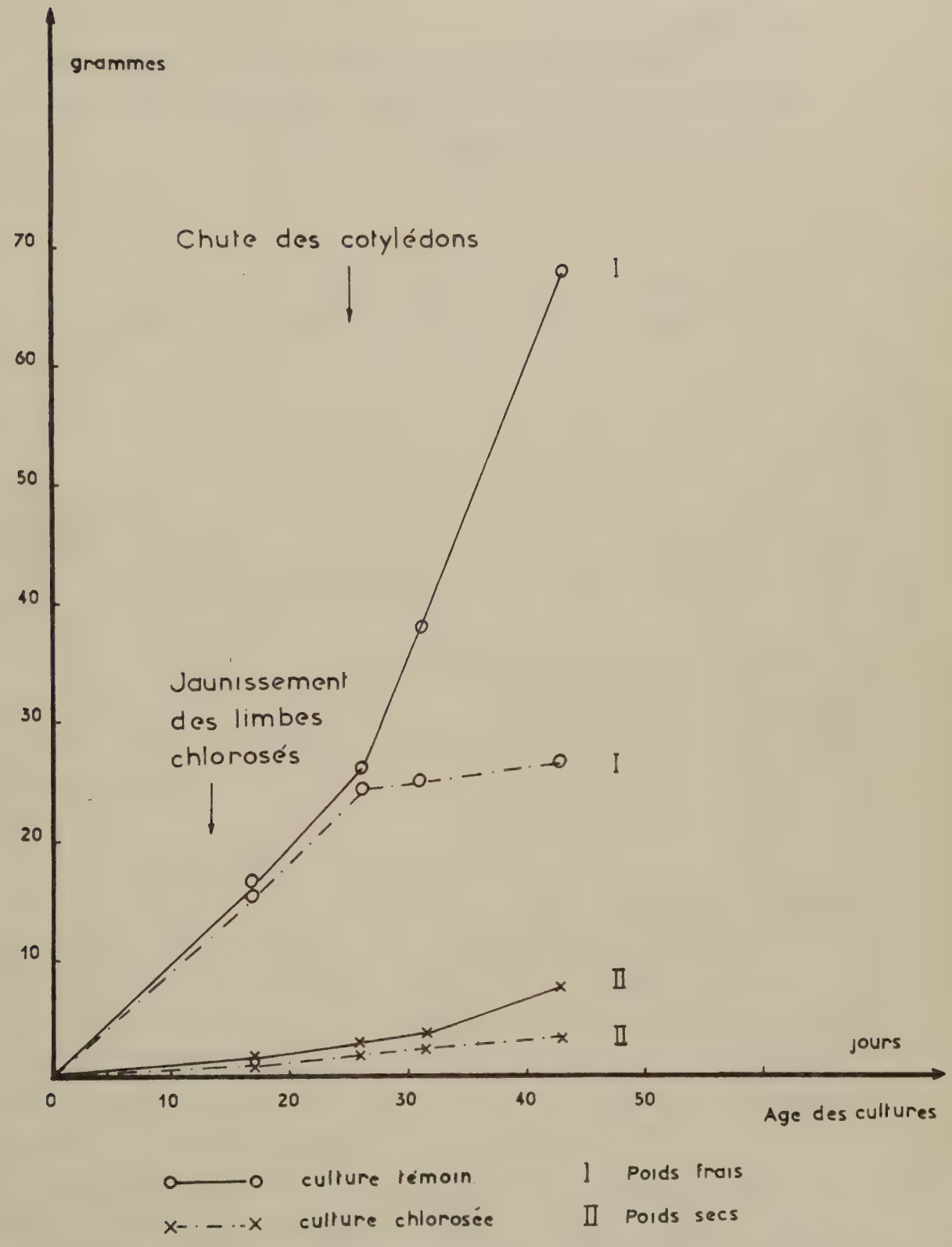
MASSE DE SUBSTANCE FRAICHE ET DE SUBSTANCE SECHE DE 10 PIEDS DE LUPINUS ALBUS (exprimée en g)

Culture en milieu artificiel :

I = Sol non chlorosant
II = Sol chlorosant

Age des cultures Stade de végétation	17 jours 4 feuilles		26 jours 6 feuilles		31 jours 8 feuilles		43 jours 10-12 feuilles	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Plante entière sans les cotylédons	16,3	15,5	25,8	24,3	37,9	25,2	67,7	26,7
Poids frais								
limbes	8,5	7,5	15	13,7	21,7	14,2	40	12,9
tiges	2,5	3,0	3,7	4,2	4,7	4,4	9,3	6,0
racines	5,3	5,0	7,1	6,4	11,5	6,6	18,4	7,8
Plante entière sans les cotylédons	1,60	1,38	2,55	2,10	3,62	2,35	7,64	3,29
Poids sec								
limbes	0,99	0,78	1,80	1,42	2,48	1,59	5,19	2,14
tiges	0,23	0,25	0,33	0,29	0,42	0,36	1,04	0,55
racines	0,38	0,35	0,42	0,39	0,72	0,40	1,41	0,60

Fig. 6



EVOLUTION de la MASSE de SUBSTANCE FRAICHE et de SUBSTANCE SECHE de 10 pieds de LUPINUS ALBUS au COURS de son DEVELOPPEMENT.

des synthèses chlorophyllienne , précède de quelques jours la chute des cotylédons.

Il apparait donc que le ralentissement de la croissance pourrait être considéré comme une conséquence secondaire d'une diminution des capacités synthétiques du végétal.

CHAPITRE III

EFFETS D'UN SOL CALCAIRE SUR L'EVOLUTION DE LA COMPOSITION MINERALE DES DIFFERENTES PARTIES DU LUPINUS ALBUS

La première partie écologique de ce travail a montré que les principales perturbations minérales qui caractérisent les plantes calcifuges récoltées sur terrain calcaire concernent leur teneur globale en K + Ca + Mg, et leur teneur en Ca et Cu.

Pour analyser plus en détail, l'instauration de l'état pathologique que représente la chlorose calcaire, nous avons étudié sur le Lupinus albus, à plusieurs stades végétatifs, l'évolution des teneurs en ces principaux éléments minéraux.

LA TENEUR GLOBALE EN K + Ca + Mg

L'étude de l'évolution des teneurs moyennes en principaux cations dans les divers organes du Lupin (tableau XV) fait apparaître que :

- un milieu riche en calcaire affecte peu la teneur globale en K + Ca + Mg de la jeune plantule. En effet, au stade deux feuilles, les variations des teneurs en cations entre les deux sortes de cultures sont de faible amplitude (de l'ordre de - 6% à + 11% seulement). Les symptômes apparents de la chlorose ne sont pas encore visibles.

Lorsque la plante possède 5-6 feuilles, la chlorose est alors nettement déclarée, elle s'accompagne d'un accroissement des teneurs en cations de l'ordre de 10 à 20% dans les tiges et pétioles et de 40% à 50% dans les limbes et dans les racines.

TABLEAU XV

TENEURS COMPARATIVES EN (K + Ca + Mg) en Ca et en Cu DES DIFFERENTES PARTIES DU LUPINUS ALBUS CULTIVE SUR SOL PAUVRE EN CALCAIRE (I) OU RICHE EN CALCAIRE (II)

V = Variation (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire)

Stades de végétation	K + Ca + Mg (meq/100 g de mat.sec)			Ca (meq/100 g de mat.sec)			Cu (p.p.m)		
	I	II	V	I	II	V	I	II	V
limbes	81,5	81,8	0	24,2	30,7	+ 27	10	10	0
pétioles	119,8	111,9	- 6	24,9	33	+ 32	9,6	8,6	- 10
tiges	83,7	87,5	+ 4	21,9	35,9	+ 64	8,3	13,7	+ 65
racines	102	113,6	+ 11	11,5	39,9	+ 250	20,8	11,8	- 43
limbes	96,4	134,9	+ 40	33,7	62,9	+ 30	9,8	8,3	- 15
pétioles	97,4	116,6	+ 19	26,4	44,9	+ 70	4,8	4,6	- 4
tiges	85,8	93,2	+ 8	21,9	29,9	+ 36	6,5	5,3	- 18
racines	110,8	164,4	+ 48	14,9	64,8	+ 330	11,8	8,8	- 25
limbes	104,3	143,1	+ 37	40,9	57,4	+ 40	9,6	7,7	- 20
pétioles	87,7	149,7	+ 70	32,4	73,3	+ 126	13,4	9,8	- 27
tiges	83,3	172	+ 107	19,9	52,9	+ 140	9	7,2	- 20
racines	82,7	200,7	+ 140	10,5	55,4	+ 430	14,13	11,3	- 20

Enfin lorsque le Lupin chlorosé arrive à la préfloraison (Stade 10-12 feuilles) son taux en K + Ca + Mg augmente encore par rapport au témoin de 37% dans les limbes, mais dans les tiges et surtout dans les racines cet accroissement est beaucoup plus important (+ 107% et + 140% respectivement).

LE CALCIUM

Au cours de sa croissance, nous avons comparé les teneurs en calcium des différentes parties du Lupinus albus cultivé sur milieu pauvre ou riche en calcaire. Le tableau XV rassemble les principaux résultats.

Les limbes des cultures témoins sont toujours les parties de la plante les plus riches en calcium. Au cours de la végétation, le calcium absorbé par les racines migre dans les feuilles où il s'accumule. Sa teneur augmente dans les tissus foliaires avec l'âge de la plante, (24,2 meq. pour 100 de matière sèche au stade 2 feuilles, 33,7 meq. dans les plantules de 5-6 feuilles et 40,9 meq. à la préfloraison). Comparativement les tiges et les racines retiennent moins le calcium ; elles maintiennent presque constant leur taux en cet élément. Dans les tiges il est successivement de 21,9 - 21,9 et 19,9 meq. et dans les racines de 11,5 - 14,9 et 10,5 meq.

Ainsi, au fur et à mesure que le Lupin sain vieillit, il s'établit entre les différents organes, une sorte de gradient de concentration en calcium allant des limbes où cette valeur est la plus élevée (40,9 meq. à la préfloraison) aux racines où elle est la plus faible (10,5 meq.). Cette observation confirme par ailleurs les récents travaux de RINGOET et coll. (1968) indiquant que la majeure partie du calcium transportée par les vaisseaux s'accumule ensuite dans le mésophylle et les cellules épidermiques de la feuille.

Par contre, les analyses faites sur les cultures chlorosées montrent que le taux de calcium s'élève de 40% dans les feuilles mais, comparativement à la plante témoin, cet élément s'accumule davantage dans les pétioles (+ 126%) la tige (140%) et il envahit littéralement les racines (430%).

Ce phénomène se traduit très tôt c'est-à-dire avant l'apparition des premiers symptômes de la maladie, faisant disparaitre ainsi, le gradient de concentration observé entre les différents organes de la plante témoin.

Aux stades ultérieurs l'effacement de ce gradient se maintient car la variation de la teneur en calcium par rapport au témoin est toujours maximale dans les racines, moyenne dans les tiges et les pétioles et relativement faible dans les limbes. Lorsque le Lupin possède 10 à 12 feuilles

cette variation est alors de + 430% dans les racines, + 140% et + 126% dans les tiges et les pétioles et de + 40% dans les limbes.

LE CUIVRE

La pénétration du cuivre est également perturbée. Bien que plus abondant dans le milieu, le taux de cet élément diminue dans la plante malade. Ce phénomène apparait dès le stade 2 F au niveau des racines (- 43%) . Il se généralise ensuite à l'ensemble de la plante.

Discussion - Conclusion

Nous avons déjà signalé que les espèces calcifuges récoltées sur terrain riche en calcaire échangeable présentaient une importante augmentation de la teneur globale en cations par rapport aux mêmes plantes récoltées sur terrain siliceux. L'étude du Lupinus albus aux différents stades de son développement permet de préciser que cette absorption minérale accrue ne se produit que lorsque la plante présente déjà des phénomènes de chlorose, c'est-à-dire au stade 5-6 F : elle est alors supérieure à l'absorption normale de 10 à 20% dans les tiges et les pétioles,et de 40 à 50% dans les limbes et les racines. Elle ne devient excessive (de 107 à 140%) dans les tiges et les racines que lorsque la plante atteint sa taille adulte.

Il apparait donc que l'augmentation des teneurs globales pourrait être considérée comme l'une des conséquences secondaires de la chlorose calcaire.

Nos observations concernant l'évolution des teneurs en calcium des différentes parties du Lupinus albus montrent que la pénétration et surtout la répartition de cet élément dans la plante sont modifiées précocément, bien avant le jaunissement internervaire des limbes.

En outre, le fait que les racines du Lupin chlorosé soient les organes les plus riches en calcium alors que dans la plante saine ce sont les limbes qui possèdent les taux les plus élevés en cet élément indique que la migration du calcium dans la plante se trouve perturbée. Le transport vers les parties chlorophylliennes de cet élément, particulièrement abondant dans les organes souterrains, apparait comme fortement ralenti .

Enfin, chez le Lupinus albus, les perturbations de l'absorption du cuivre apparaissent très précocément au niveau des racines : dès le stade

2 F, alors qu'elles interviennent plus tardivement au niveau des limbes. Elles coïncident alors avec le jaunissement internervaire de ces organes.

Il semble donc que la dépigmentation du Lupin chlorosé serait, en partie au moins, une conséquence à échéance différée, d'une perturbation précoce de l'absorption du cuivre au niveau des racines.

CHAPITRE IV

ACTION D'UN SOL CALCAIRE SUR LES CHLOROPHYLLES ET LES GLUCIDES SOLUBLES DU LUPINUS ALBUS

La chlorose est essentiellement caractérisée par une disparition des pigments chlorophylliens. Or la chlorophylle constitue pour la plante le principal élément de sa nutrition organique : en effet, les variations des teneurs en chlorophylles a et b ont des répercussions considérables sur la synthèse des glucides. C'est pourquoi il est important d'étudier d'abord les effets d'un sol riche en CO_3Ca sur les teneurs en chlorophylles du Lupin blanc.

Nous étudierons ensuite, les perturbations causées par la chlorose sur le métabolisme glucidique de la plante : deux phénomènes distincts devront être considérés : la synthèse des composés glucidiques et leur utilisation par le végétal. Ces deux phénomènes se déroulent en même temps pendant la période d'éclairement de la journée. Durant la nuit, seules l'utilisation et les migrations se produisent. Nous essayerons de voir quelles peuvent être les conséquences de la chlorose sur ces différents mécanismes.

A - LES TENEURS EN CHLOROPHYLLES

Les deux premières feuilles du Lupin cultivé sur sol calcaire présentent rarement des altérations dans leur contenu chlorophyllien. Par contre, les feuilles qui se développent ensuite jaunissent et l'ampleur de cette dépigmentation est fonction de la gravité de la maladie.

Nous avons comparé les teneurs en chlorophylles des 3ème et 4ème feuilles de Lupin cultivé sur sol pauvre ou riche en calcaire. Les principaux résultats rassemblés dans le tableau XVI montrent que la teneur en

chlorophylle totale des feuilles chlorosées est réduite de 57% par rapport à celle des limbes sains. Elle est de l'ordre de 0,88 du poids frais dans les tissus malades alors que les échantillons témoins en renferment 2,04%.

Les déterminations quantitatives des chlorophylles a et b et les valeurs du rapport chlorophylle a/ chlorophylle b, témoignent d'une diminution plus importante du pigment b.

TABLEAU XVI

TENEURS COMPARATIVES EN CHLOROPHYLLES DANS LES 3° et 4° FEUILLES DU LUPINUS ALBUS CULTIVE SUR SOL PAUVRE EN CALCAIRE (I) OU SUR SOL RICHE EN CALCAIRE (II) (exprimée en °/°° du poids frais)

V = Variation (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol témoin pauvre en calcaire)

	I	II	V
Chlorophylles totales	2,04	0,88	- 57
Chlorophylle a	1,50	0,68	- 55
Chlorophylle b	0,54	0,20	- 63
$\frac{\text{Chlorophylle a}}{\text{Chlorophylle b}}$	2,75	3,36	+ 22

B - LES GLUCIDES SOLUBLES

Le Lupin blanc n'accumule pratiquement pas d'amidon pendant sa période active de développement. Il renferme par contre un certain nombre de glucides solubles : le fructose, le glucose, le saccharose y sont relativement abondants. La présence de xylose et de raffinose a été décelée. Enfin un heptulose a été identifié. Cet heptulose parait être le mannoheptulose dont il a le Rf dans les systèmes de solvants adoptés.

Nous exposerons d'abord les résultats concernant l'action du sol calcaire sur l'ensemble de ces glucides solubles dans les différents organes du Lupin. Nous étudierons ensuite les variations observées sur les proportions et les teneurs en oses et osides.

1 - LES TENEURS GLOBALES EN GLUCIDES SOLUBLES

Sur des cultures de Lupin faites dans des conditions naturelles, nous avons effectué au mois de juin, deux prélèvements distincts : l'un le matin avant toute activité photosynthétique, l'autre le soir, après une journée d'éclairement. Les contenus glucidiques des différentes parties de la plante récoltée au stade 6 F ont été déterminés. Le tableau XVII résume les principaux résultats obtenus.

TABLEAU XVII

A - QUANTITE GLOBALE EN GLUCIDES SOLUBLES PRESENTS DANS UN PIED DE LUPINUS ALBUS CULTIVE SUR SOL PAUVRE EN CALCAIRE (I) OU SUR SOL RICHE EN CALCAIRE (II)

B - TENEURS COMPARATIVES DES DIVERS ORGANES

V = Variation relative entre la plante saine et la plante chlorosée (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire)

		Glucides présents				Différence	
		matin	V	soir	V	quantité	%
A - quantité de glucides présents dans un pied de Lupin (en mg)	Sain I	34	- 16	87,3	- 42	53,3	61,1
	Chlorosé II	28,5		50,3		21,8	56,5
B - Teneurs (en g pour 100 g de mat.frais)							
limbes	Sain I	0,57	+ 93	2,30	- 15	1,73	75,2
	Chlorosé II	1,10		1,95		0,85	43,5
tiges	Sain I	1,58	- 9	3,70	- 27	2,12	57
	Chlorosé II	1,44		2,69		1,25	46,4
racines	Sain I	1,08	- 26	1,79	- 23	0,71	39,6
	Chlorosé II	0,80		1,37		0,57	41,6

Les variations des teneurs entre le matin et le soir ne présentent pas la totalité des glucides synthétisés au cours de la journée. Elles indiquent seulement la différence entre la quantité produite par photosynthèse et celle utilisée pour les synthèses, les migrations dans les autres organes et la respiration.

La plante saine :

La teneur en glucides solubles des limbes du Lupin est de l'ordre de 0,57% le matin. En fin de journée elle atteint 2,3%. Ainsi, après une période de photosynthèse, le bilan positif en glucides solubles, c'est-à-dire la quantité de sucres accumulés au cours d'une journée est de 1,73 g environ pour 100 g de matériel frais. Ce gain représente 75% de la teneur en glucides des limbes en fin de journée.

Les tiges sont les organes les plus riches en ces composés. Leur teneur est de l'ordre de 1,58% le matin et de 3,7% en fin de journée. Dans 100 g de tissus frais 2,12 g de glucides solubles supplémentaires se sont accumulés au cours de la période d'éclairement, ce qui représente 57% des glucides totaux.

Les racines possèdent une teneur de l'ordre de 1,08% le matin et de 1,79% le soir.

La plante chlorosée :

Mesurée le matin, la teneur en glucides solubles des limbes chlorosés est de l'ordre de 1,10%. Ce taux est nettement supérieur à celui que nous avons obtenu dans la plante saine. La variation relative entre feuille saine et feuille chlorosée est énorme : + 93%. Par contre, au cours d'une période d'éclairement, les limbes malades accumulent beaucoup moins de sucres solubles de sorte que leur teneur mesurée en fin de journée est inférieure de 15% par rapport au témoin.

Dans les tiges, la chlorose calcaire abaisse le taux des glucides solubles de 9% environ le matin et de 27% le soir.

Enfin le taux des racines diminue respectivement de 23% et de 26% au début et en fin de journée lorsque cette plante vit sur un milieu riche en calcaire.

Ainsi, la quantité globale de glucides solubles, utilisée par l'ensemble d'un pied de Lupin au cours d'une période d'éclairement, est nettement diminuée lorsque celui-ci pousse sur un terrain calcaire. Cette

réduction se traduit, en fin de journée, par une baisse des teneurs en glucides totaux dans tous les organes de la plante.

Toutefois, nous avons constaté également que l'utilisation et la répartition des composés glucidiques étaient perturbées. Ces modifications sont mises en évidence par une accumulation relativement importante de glucides au niveau des limbes chlorosés.

Il était intéressant alors, de connaître la nature des sucres les plus directement responsables de ce phénomène.

2 - LES PRINCIPAUX GROUPES DE GLUCIDES SOLUBLES

a) *Les glucides non hydrolysables : les oses*

Les oses solubles sont composés en grande partie de glucose et de fructose. Le xylose et le mannoheptulose représentent moins de 5% de l'ensemble des sucres non hydrolysables.

Nous envisagerons d'abord les effets d'un sol calcaire sur l'ensemble des oses présents dans le Lupin. Nous étudierons ensuite, plus particulièrement, les variations des teneurs en mannoheptulose. Ce composé, bien que présent en faible quantité (de 1 à 2% des glucides solubles totaux) représente un chainon important dans la voie du métabolisme qui conduit aux acides shikimique et quinique.

1°) - L'ensemble des oses - Nous avons regroupé dans le tableau XVIII les résultats de nos analyses comparatives concernant la quantité d'oses présents dans un pied de Lupin et les teneurs respectives des principaux organes de cette plante.

Si l'on compare les deux sortes de culture le matin, avant toute activité photosynthétique, on s'aperçoit que la quantité d'oses solubles présents dans l'ensemble d'un pied chlorosé est légèrement plus faible que celle trouvée dans la plante témoin (V = -8%). Cette différence n'est pas énorme. Par contre, en fin de journée, la plante saine se trouve enrichie de 25,7 mg d'oses supplémentaires, ce qui amène à 46,13 mg la quantité trouvée dans un pied de Lupin sain. Tandis que le Lupin cultivé sur sol calcaire n'accumule que 4,75 mg supplémentaires.
L'ensemble de la plante renferme alors 23,6 mg d'oses. Soit 50% de moins que le témoin.

L'analyse de chaque organe indique la répartition de ces sucres dans la plante.

- TABLEAU XVIII -

A - QUANTITE GLOBALE D'OSES PRESENTS DANS UN PIED DE LUPINUS ALBUS CULTIVE SUR SOL PAUVRE EN CALCAIRE (I) OU SUR SOL RICHE EN CALCAIRE (II)

B - TENEURS COMPARATIVES EN OSES DES DIVERS ORGANES

V = Variation relative entre la plante saine et la plante chlorosée (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire).

		Oses présents				Différence	
		matin	V	soir	V	quantité	%
A - Quantité d'oses présents dans un pied de Lupin (en mg)	Sain I	20,42	- 8	46,13	- 50	25,71	55,8
	Chlorosé II	18,85		23,6		4,75	20
B - Teneurs (en g pour 100 g de matériel frais) limbes	Sain I	0,47	+ 80	1,86	- 28	+ 1,39	75
	Chlorosé II	0,85		1,33		+ 0,48	36
Tiges	Sain I	0,72	+ 10	0,66	- 7,5	- 0,06	-
	Chlorosé II	0,79		0,61		- 0,18	-
Racines	Sain I	0,41	- 17	0,60	- 45	+ 0,19	32
	Chlorosé II	0,34		0,33		- 0,01	-

Le Lupin sain :

Normalement, au début de la journée, les limbes de Lupin sain renferment relativement peu d'oses solubles (0,47%) ; les tiges en contiennent davantage (0,72%) les racines (0,41%).

Après une période d'éclairement, la plante s'enrichit en oses. Cet enrichissement se localise essentiellement dans les feuilles : (100 g de limbes frais renferment en fin de journée 1,39 g d'oses supplémentaires). Le taux des tiges ne varie pas beaucoup. Celui des racines s'accroît légèrement (100 g de racines fraiches renferment le soir 0,19 g d'oses supplémentaires).

Ainsi, en ce qui concerne les oses de la plante saine, le bilan positif d'une période d'éclairement se traduit par une augmentation d'oses au niveau des limbes et des racines. L'amplitude des variations du taux de ces composés (entre le prélèvement du matin et celui du soir) est très élevée dans les limbes. Elle l'est beaucoup moins dans les racines.

Le Lupin chlorosé :

Les cultures effectuées sur sol calcaire présentent des modifications en ce qui concerne les teneurs et la répartition des oses dans les différents organes.

Le matin les limbes malades renferment 0,85% d'oses. Cette valeur est beaucoup plus élevée que celle de la plante saine : l'augmentation est de l'ordre de 80%. Les tiges sont également plus riches en ces composés (0,79%) la variation relative par rapport au témoin est toutefois plus faible (+ 10%). Par contre le taux des racines malades a baissé de 17% par rapport aux racines saines.

Lorsqu'on observe les variations au cours d'une période d'éclairement, à l'intérieur d'un même organe, on constate que seuls les limbes s'enrichissent en oses. Leur teneur passe de 0,85% (le matin) à 1,33% (le soir) ce qui correspond à un gain de 0,48 g pour 100 g de tissus frais. La teneur des tiges diminue légèrement, celle des racines reste pratiquement constante.

Ainsi, comparé au Lupin sain, le Lupin chlorosé présente :

- une nette diminution de l'amplitude des variations quantitatives entre le matin et le soir.
- des modifications dans la répartition des oses à l'intérieur de la plante.

2°) - Le mannoheptulose - Ce glucide a été mis en évidence dans les tissus foliaires du Lupin. Bien que présent en faible quantité, ses

teneurs semblent être particulièrement affectées par la chlorose calcaire. En effet, les limbes sains renferment environ 9,5 mg de mannoheptulose dans 100 g de tissus frais. Les feuilles chlorosées en possèdent 30,25 mg, ce qui représente une augmentation de 220% environ.

Nous avons, par ailleurs, constaté qu'un traitement de la chlorose calcaire (aux chélates de fer) avait pour effet de redonner à la plante traitée un taux normal de mannoheptulose LATTES F. et coll. (1966).

b) *Les glucides hydrolysables : les osides solubles*

Le raffinose se trouve en très faible quantité dans les limbes et les racines du Lupin de sorte que nous pouvons pratiquement attribuer au saccharose seul, les variations quantitatives observées dans la fraction hydrolysable de nos extraits.

Nous avons rassemblé dans le tableau XIX les principaux résultats obtenus.

La plante saine : La quantité globale de saccharose trouvé dans l'ensemble d'une plantule saine (au stade 6 F) est de l'ordre de 13,58 mg le matin et de 41,17 mg le soir. Ce sucre, généralement considéré comme une forme de transport, ne s'accumule pas dans les limbes. Il se localise surtout dans les organes conducteurs. La tige du Lupin est la partie de la plante où la teneur en saccharose est la plus élevée (0,86 pour cent du poids frais le matin et 3,04% après la période d'éclairement).

La plante chlorosée : Les quantités globales de saccharose présent dans l'ensemble de la plante malade sont de l'ordre de 9,65 mg avant la période d'éclairement et de 26,7 mg après une journée de lumière. Comparé à la plante témoin cela représente une baisse de l'ordre de 29% le matin et de 35% le soir.

L'étude des teneurs comparatives en saccharose des divers organes met en évidence une importante accumulation de ce composé dans les limbes malades. Cet enrichissement par rapport au témoin est particulièrement élevé dans les échantillons analysés le matin (+ 150%).

Par contre, les autres parties de la plante chlorosée présentent une nette diminution du taux de saccharose (comparé au témoin)-24% pour les tiges et - 31% pour les racines.

- TABLEAU XIX -

A - QUANTITE GLOBALE DE SACCHAROSE DANS UN PIED DE LUPINUS ALBUS CULTIVE SUR SOL PAUVRE EN CALCAIRE (I) OU SUR SOL RICHE EN CALCAIRE (II)

B - TENEURS COMPARATIVES EN SACCHAROSE DES DIVERS ORGANES

V = Variation relative entre la plante saine et la plante chlorosée (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire)

			Saccharose présent				Différence	
			Matin	V	Soir	V	quantité	%
A - Quantité de saccharose présent dans un pied de Lupin (en mg)		Sain I	13,58	- 29	41,17	- 35	27,6	67
		Chlorosé II	9,65		26,72		17,08	64
B - Teneurs (en g pour 100 g de mat. frais)	limbes	Sain I	0,10	+150	0,44	+ 40	0,34	77
		Chlorosé II	0,25		0,62		0,37	60
	tiges	Sain I	0,86	- 24	3,04	- 31	2,18	72
		Chlorosé II	0,66		2,08		1,43	69
	racines	Sain I	0,67	- 31	1;19	- 12	0,52	45
		Chlorosé II	0,46		1,04		0,58	55

Discussion - Conclusion

Nous venons de voir qu'une nutrition riche en calcaire actif a pour effet de réduire de 57% environ le taux de chlorophylle des limbes de Lupinus albus.

Nous nous sommes demandé, alors, si la chlorose calcaire affecte uniquement la teneur en chlorophylles du Lupin ou bien si elle perturbe également l'activité photosynthétique des pigments.

Il ne nous a pas été possible de mesurer directement les activités photosynthétiques de nos cultures. D'autre part, nous ignorons quelle est la quantité réelle de glucides synthétisés par la plante au cours d'une période d'éclairement. En effet, les variations entre le matin et le soir indiquent uniquement la différence entre la quantité produite par photosynthèse et celle utilisée par la plante pour les migrations, le catabolisme respiratoire et l'anabolisme à partir des oses.

En ce qui concerne les limbes, cette différence est égale à 1,73% g frais pour la plante saine et à 0,85% g frais pour l'échantillon chlorosé. Ces chiffres sont pratiquement proportionnels aux teneurs en chlorophylles des limbes correspondants :

$$\frac{\text{Glucides accumulés au cours d'une journée}}{\text{teneur en chlorophylles}} \quad : \quad \text{Sain } \frac{1,73}{2,04} = 0,85 \qquad \text{chlorosé } \frac{0,85}{0,88} = 0,96$$

Si, par ailleurs, nous considérons la plante entière au stade 6 F, les migrations ne rentrent plus en jeu , alors que les comparaisons demeurent possibles car les variations de poids frais entre la plante saine et la plante chlorosée sont inférieures à 5%.

L'amplitude des variations des teneurs en sucres solubles entre le matin et le soir correspond alors uniquement à la différence entre la quantité produite par photosynthèse et celle reprise, au cours de la même période, par le catabolisme et l'anabolisme à partir des oses.

Le rapport : $\dfrac{\text{Glucides accumulés au cours d'une journée}}{\text{Teneur en chlorophylles}}$

est égal à $\dfrac{53,3}{2,04} = 26,1$ pour la plante saine

et à $\dfrac{21,8}{0,88} = 24,7$ pour la plante malade.

Ces résultats montrent, dans ce cas où les phénomènes de migration n'entrent plus en jeu , un parallélisme encore plus étroit entre la quantité de glucides solubles accumulés par la plante entière et la teneur en chlorophylles des limbes.

Ces constatations paraissent assez favorables à l'hypothèse que la chlorose calcaire affecterait davantage la teneur en chlorophylles que l'activité photosynthétique des pigments eux-mêmes.

Si nous prenons les valeurs des divers rapports que nous venons de calculer :

	Sain	Chlorosé	Variation relative
Limbes	0,85	0,96	+ 13%
la plante entière	26,1	24,7	- 5,5%

nous constatons qu'au niveau des limbes l'accumulation des sucres parait légèrement plus élevée dans la plante chlorosée (+ 13%) alors qu'elles est plus faible dans la plante entière (- 5,5%). Cette variation de sens (+ 13% - 5,5%) doit correspondre en grande partie à l'élimination du facteur migration. Ceci nous conduit à envisager la possibilité d'une perturbation au niveau des phénomènes de transports des composés glucidiques. En effet, l'analyse des diverses parties de la plante nous a permis de constater une accumulation relativement importante des glucides solubles au niveau des limbes malades se traduisant à la fin de la période d'obscurité par une augmentation des teneurs de l'ordre de 80% pour l'ensemble des oses, de 150% pour le saccharose et de 220% pour le mannoheptulose.

- D'une part, cette richesse particulière en glucides solubles, observée le matin dans les limbes chlorosées par rapport à la pauvreté des autres parties de la plante.

- D'autre part le fait que le saccharose et le mannoheptulose sont classiquement considérés comme des formes de transport chez les végétaux, contribue encore à nous convaincre que la chlorose calcaire affecte également les migrations glucidiques de Lupinus albus.

CHAPITRE V

LES EFFETS D'UN SOL CALCAIRE SUR LE METABOLISME INTERMEDIAIRE DU LUPINUS ALBUS

Les acides organiques et les acides aminés libres occupent une place importante dans le métabolisme intermédiaire des végétaux. Toutefois, une grande partie de ces composés ne sont plus en contact avec les enzymes concernant leur métabolisme. Ils s'accumulent dans les vacuoles où ils jouent alors, par leur teneur globale et leurs relations avec les cations minéraux, un rôle important dans les équilibres ioniques et la pression osmotique de la plante.

Nous envisagerons donc d'abord l'étude des effets d'un sol calcaire sur l'acidité organique globale du Lupinus albus, nous considérerons ensuite les répercussions que cela entraine sur les rapports $\frac{\text{acides organiques}}{\text{cations minéraux}}$ de la plante.

Enfin, bien que la majorité des acides organiques ne soient plus en contact avec leur lieu de synthèse, la nature et l'évolution quantitative de chacun de ces composés caractérisent le métabolisme de la plante. Leurs variations en fonction du calcaire actif présent dans le sol, sont donc susceptibles de traduire des anomalies dans le transport de ces substances ou des déviations de leur métabolisme. C'est pourquoi nous étudierons les effets du calcaire sur la composition et les teneurs en chacun des acides organiques et aminés dans les principaux organes du Lupinus albus.

A - L'ACIDITE ORGANIQUE TOTALE

Nous avons suivi, au cours de la végétation, les variations quantitatives de l'ensemble des acides organiques présents dans les différents organes du Lupin cultivé sur sol riche ou pauvre en calcaire. Les principaux résultats obtenus sont réunis dans le tableau XX et la figure 7.

TABLEAU XX

EFFETS D'UN SOL CALCAIRE SUR L'ACIDITE ORGANIQUE TOTALE DES DIFFERENTS ORGANES DU LUPINUS ALBUS AU COURS DE SON DEVELOPPEMENT

(exprimée en meq/100 g de mat. frais)

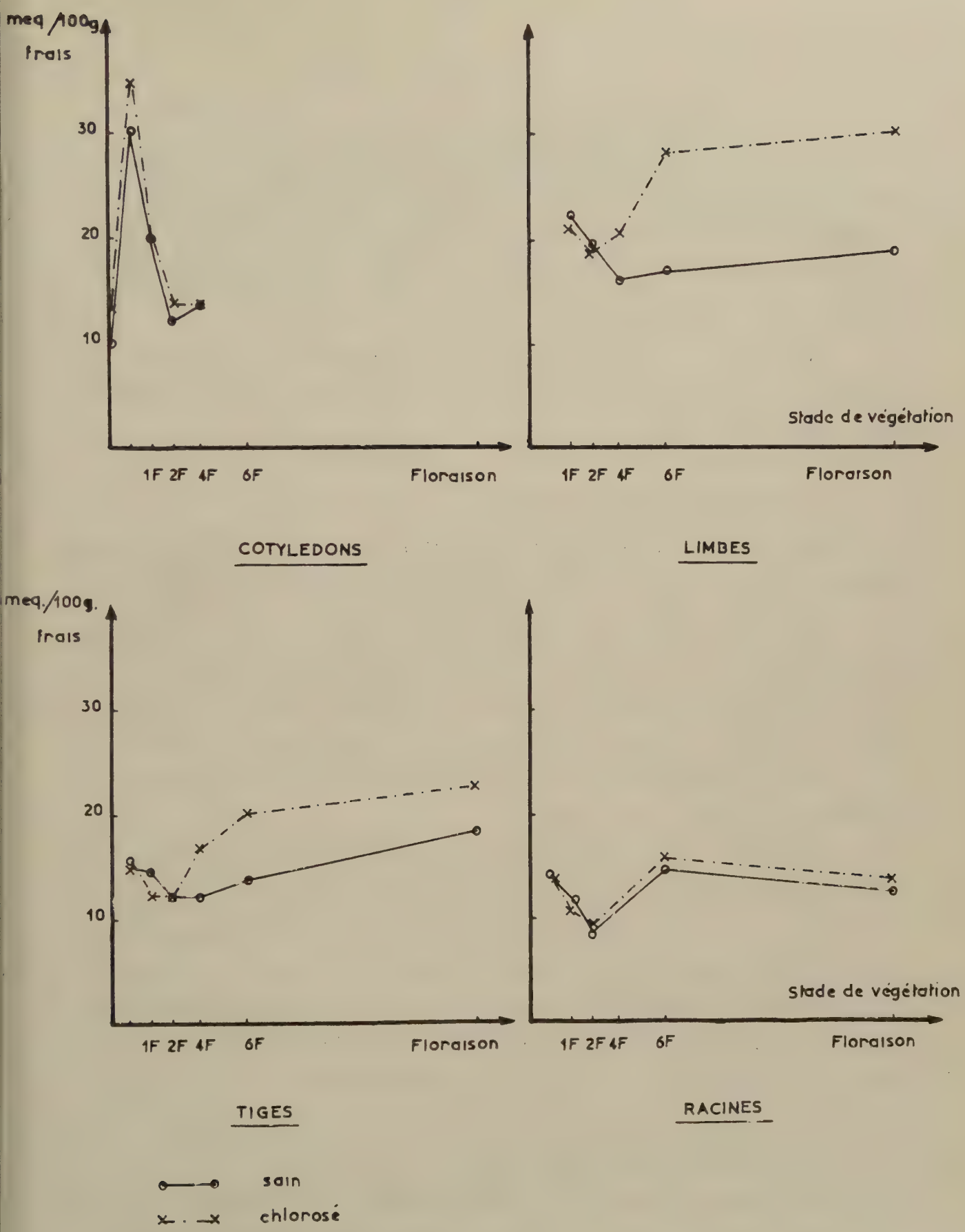
I - Sol témoin pauvre en calcaire

II - Sol riche en calcaire

V = variation relative (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire)

Organes		graine	cotylédons			limbes			tiges			racines		
Terrain			I	II	V	I	II	V	I	II	V	I	I_I	V
Stade de végétation	Age des cultures													
graine	0	10,8												
germination	4 jours		30,2	34,6	+ 15				15,1	15,5	+ 3	14	13,9	-1
1 feuille	8 jours		20	20,4	+ 2	22,3	21,1	- 5	14,5	12,3	-15	11,5	11	-4
2 feuilles	10-12jours		12,2	13,9	+ 14	19,4	18,8	- 2	12,3	12,4	+ 1	8,6	9,7	+13
4 feuilles	17 jours		13,8	13,6	-1,5	16,3	20,5	+26	12,1	16,8	+39	10,8	11,8	+ 9
6 feuilles	26 jours		-	-		17,1	28,3	+65	13,9	20,2	+45	14,7	15,7	+ 7
Floraison	70 jours		-	-		19	30,4	+60	18,4	22,7	+24	12,7	13,8	+ 9

Fig 7



TENEUR GLOBALE en ACIDES ORGANIQUES des DIFFERENTS ORGANES du LUPINUS ALBUS au COURS de son DEVELOPPEMENT.

1 - LES COTYLEDONS

En examinant l'évolution de l'acidité organique dans les cotylédons du Lupin sain, on constate dès le 4ème jour de germination, une importante accumulation d'acides (30,2 meq/100 g frais). L'acidité diminue ensuite rapidement : elle n'est plus que de 12,1 meq/100 g frais, lorsque la 2ème feuille de la jeune plantule se développe. Cette accumulation momentanée témoigne d'un catabolisme intense des produits de réserve.

Un milieu riche en calcaire échangeable ne semble pas avoir une grande influence sur l'évolution de l'acidité organique totale des cotylédons (figure 7).

2 - LES LIMBES ET LES TIGES

Quand on compare les teneurs globales en acides des différents organes du Lupin sain, on constate que les limbes sont les tissus les plus riches en ces composés (tableau XX). Leur acidité varie avec l'âge de la plante : de l'ordre de 22,3 meq/100 g frais au stade 1 F, elle diminue ensuite progressivement jusqu'au stade 4 F où elle atteint une valeur minimale (16,3 meq) puis augmente à nouveau légèrement jusqu'à la floraison. Elle est alors de l'ordre de 19 meq/100 g frais dans les limbes de Lupin sain.

Les tiges présentent une évolution analogue avec toutefois des valeurs relativement plus faibles.

Les effets d'un sol calcaire sur l'acidité organique totale de la jeune plantule du Lupin (stade 2 F) ne paraissent guère importants. Par contre lorsque la 4ème feuille se développe, une accumulation des composés organiques acides devient nettement apparente. Comparés aux plantes saines, ces derniers augmentent de 26% dans les limbes et de 39% dans les tiges. Ce phénomène s'accentue encore jusqu'au stade 6 F. Au moment de la floraison, la teneur en acides des limbes et des tiges s'est accrue respectivement de 60% et de 24% par rapport à la teneur normale.

3 - LES RACINES

De l'ordre de 14 meq/100 g frais, au moment de la germination, l'acidité organique des racines du Lupin sain diminue ensuite progressivement jusqu'au moment où la plantule développe ses deux premières feuilles. Elle atteint alors une valeur minimale (8,6 meq) puis augmente à nouveau. Les racines du Lupin au stade 6 F renferment 14,3 meq/100 g frais.

Le sol calcaire n'a pas une grande influence sur l'acidité organique globale des racines (figure 7). Tout au cours de la végétation, elle reste légèrement supérieure au témoin (+ 10%).

En résumé :

Le sol calcaire affecte peu l'acidité organique totale de la jeune plantule du Lupinus albus au début de son développement. Puis, lorsque la 4ème feuille apparait, il provoque une importante augmentation de l'acidité dans les limbes et les tiges. Par contre, les cotylédons et les racines semblent, apparemment, être peu perturbés par ce changement de milieu.

B - LES RAPPORTS : $\frac{\text{ACIDES ORGANIQUES}}{\text{CATIONS MINERAUX}}$

Nous venons de voir qu'un sol riche en calcaire a pour effet de modifier la composition minérale et les teneurs globales en acides organiques des différents organes du Lupin. De telles modifications ne sont pas sans conséquences sur les divers équilibres de la plante. Or, il est actuellement bien connu que chez les végétaux les teneurs en acides organiques et aminés sont en liaison étroite avec les quantités de cations minéraux (SCHAEDLE et JACOBSON 1966-1967 - HIATT et LOWE 1967).

Il est donc important de connaître quelles sont les perturbations apportées par la chlorose calcaire dans les rapports $\frac{\text{acides organiques}}{\text{cations minéraux}}$ du Lupinus albus.

Nous considérons également le rapport $\frac{\text{acide citrique}}{\text{calcium}}$.

Les analyses ont été faites sur des cultures de Lupin cultivé comparativement sur sol pauvre ou riche en calcaire. Les tableaux XXI, XXII et XXIII, et la figure 8 rassemblent les principaux résultats (exprimés en meq. pour 100 g de matière fraîche).

Au stade 2 F, le sol calcaire n'a pas encore une grande répercussion sur l'acidité organique totale et sur la teneur globale (K + Ca + Mg) de la jeune plantule. Seules les racines présentent une augmentation de l'acidité organique de l'ordre de 13% et un accroissement du taux de cations minéraux de 19% environ. Ces modifications restent relativement faibles et n'affectent pas beaucoup le rapport $\frac{\text{acides organiques}}{\text{cations minéraux}}$. Les variations relatives de ce paramètre, entre la plante saine et la plante chlorosée, ne dépassent pas 10%.

En ce qui concerne le rapport $\frac{\text{acide citrique}}{\text{calcium}}$, les teneurs en acide citrique s'accroissent respectivement de 23% et de 20% dans les limbes et les tiges chlorosés, elles ne varient pratiquement pas dans les racines. Par

TABLEAU XXI

TENEURS COMPAREES EN ACIDITE ORGANIQUE ET EN CATIONS MINERAUX DES LIMBES DU LUPINUS ALBUS CULTIVE SUR SOL PAUVRE EN CALCAIRE (I) OU SUR SOL RICHE EN CALCAIRE (II)

(exprimées en meq/100 g de mat. frais)

V = Variation relative (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire)

Stade de végétation	2 F			6 F			Floraison		
	I	II	V	I	II	V	I	II	V
Acidité organique totale	19,3	18,8	- 2	17,1	28,3	+ 65	19	30,4	+ 60
K + Ca + Mg	8,15	8,18	0	11,56	13,5	+ 17	13,05	24,31	+ 87
Acides organiques / cations minéraux	2,3	2,2	- 4	1,4	2,5	+ 50	1,4	1,2	- 14
Acide citrique	1,3	1,6	+23	0,5	0,83	+ 66	0,55	0,91	+ 77
Calcium	2,42	3,07	+27	4,04	6,5	+ 60	5,1	9,75	+ 90
Acide citrique / calcium	0,53	0,52	- 2	0,12	0,12	-	0,10	0,09	- 10

TABLEAU XXII

TENEURS COMPAREES EN ACIDITE ORGANIQUE ET EN CATIONS MINERAUX DES TIGES DU LUPINUS ALBUS CULTIVE SUR SOL PAUVRE EN CALCAIRE (I) OU SUR SOL RICHE EN CALCAIRE (II)

(exprimées en meq/100 g de mat. frais)

V = Variation relative (exprimée en %) par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire

Stade de végétation	2 F			6 F			Floraison		
	I	II	V	I	II	V	I	II	V
Acidité organique totale	12,3	13,4	+ 1	13,9	20,2	+ 45	18,4	22,7	+ 23
K + Ca + Mg	7,52	7,43	- 1	7,28	5,59	- 23	9,57	15,48	+ 62
Acides organiques / cations minéraux	1,6	1,6	0	1,7	3,6	+110	1,9	1,4	- 26
Acide citrique	1	1,2	+ 20	0,45	0,85	+ 90	0,57	0,88	+ 54
Calcium	1,97	3,05	+ 55	1,90	2,06	+ 7	2,29	4,76	+108
Acide citrique / calcium	0,5	0,4	- 20	0,23	0,41	+ 78	0,24	0,18	- 25

TABLEAU XXIII

TENEURS COMPAREES EN ACIDITE ORGANIQUE ET EN CATIONS MINERAUX DES RACINES DU LUPINUS ALBUS CULTIVE SUR SOL PAUVRE EN CALCAIRE (I) OU SUR SOL RICHE EN CALCAIRE (II)

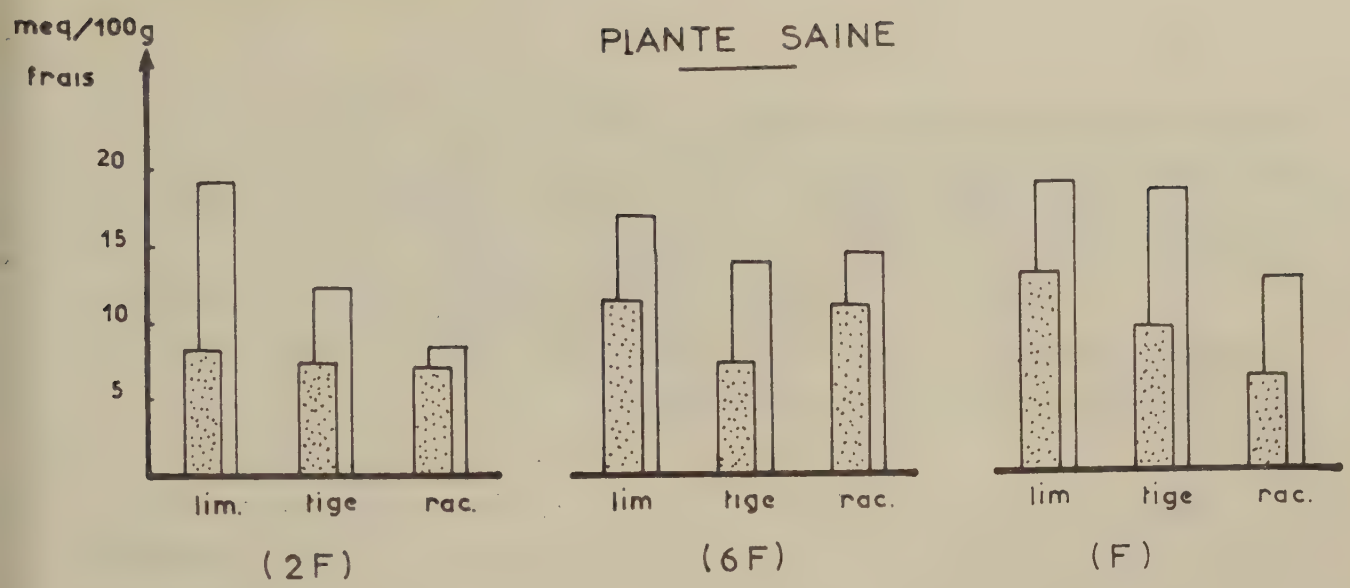
(exprimées en meq/100 g de mat. frais)

V = Variation relative (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire)

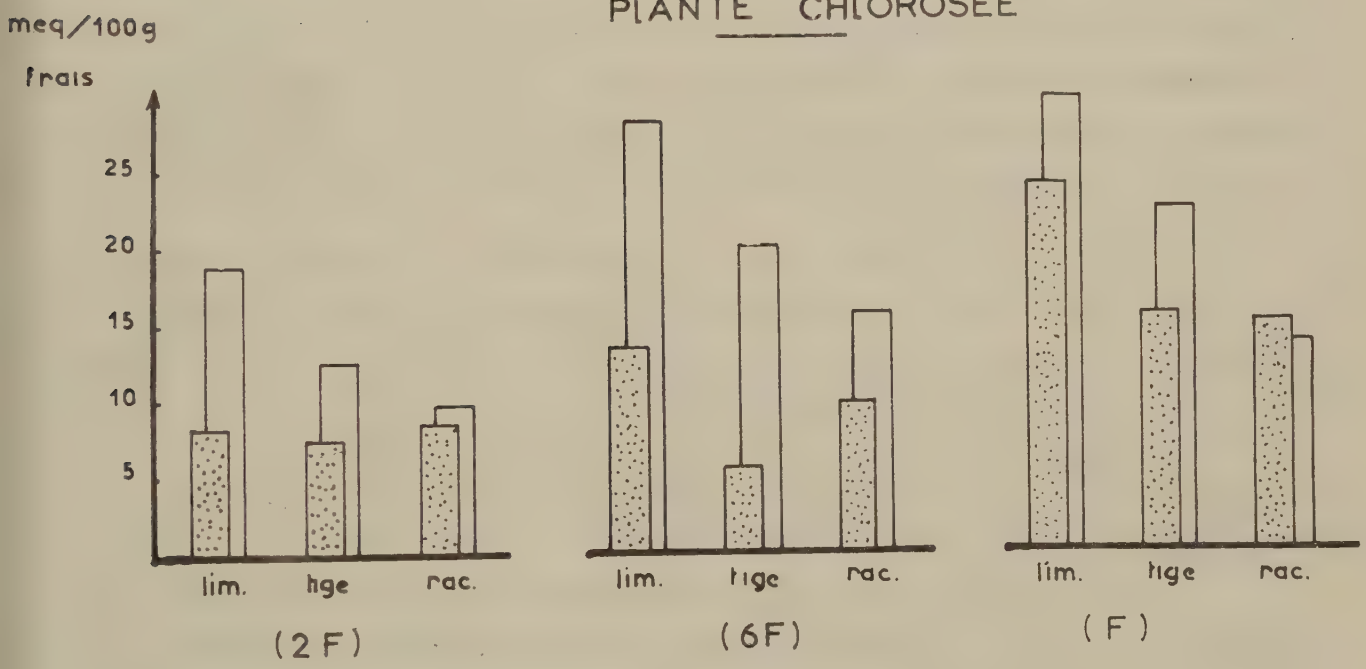
Stade de végétation	2 F			6 F			Floraison		
	I	II	V	I	II	V	I	II	V
Acidité organique totale	8,6	9,7	+ 13	14,7	15,7	+ 7	12,7	13,8	+ 9
K + Ca + Mg	7,15	8,51	+ 19	11,07	9,86	- 10	6,18	15,04	+ 140
Acides organiques / cations minéraux	1,2	1,1	- 8	1,3	1,6	+ 23	2	0,92	- 54
Acide citrique	2,5	2,5	0	2,2	5,1	+132	1,7	5,0	+ 195
Calcium	0,80	2,99	+275	0,88	3,94	+348	0,78	4,15	+ 430
Acide citrique / calcium	3	0,8	- 73	2,5	1,2	- 52	2,1	1,2	- 43

Fig. 8

PLANTE SAINE



PLANTE CHLOROSÉE



TENEURS COMPARÉES en ACIDITÉ ORGANIQUE TOTALE et en CATIONS MINERAUX chez le LUPINUS ALBUS SAIN ou CHLOROSÉ.

Stade de Végétation :

2F : plantule ayant 2 feuilles développées

6F : —— 6 ——

F : floraison

acidité organique totale

cations minéraux : (K+Ca+Mg)

contre le taux de calcium augmente de 27% dans les deux premières feuilles, de 55% dans la tigelle et de 275% dans la jeune racine. Il en résulte une baisse du rapport $\frac{\text{acide citrique}}{\text{calcium}}$ de 2% seulement dans les limbes mais de 20% dans les tiges et de 73% dans les racines du Lupin chlorosé.

Ainsi au stade 2 F, l'équilibre $\frac{\text{acides organiques}}{\text{cations minéraux}}$ n'est pas encore fortement modifié par contre nous pouvons constater que la jeune racine est déjà perturbée par un excès de calcium.

- Analysées quelques jours plus tard (au stade 6 F) les cultures du Lupin chlorosé présentent une acidification importante. Comparée au témoin, l'acidité organique totale s'accroit de 65% dans les limbes, de 45% dans les tiges et de 7% dans les racines. Au cours de cette même période, les variations relatives des teneurs en cations minéraux ne sont pas de même ordre : + 17% dans les limbes, - 23% dans les tiges et -10% dans les racines (la figure 8, illustre bien ce phénomène). Il est probable que cette acidification représente une réaction physiologique de la plante à l'égard d'un milieu nutritif défavorable.

Au stade 6 F, l'acide citrique s'accumule dans les limbes : (+66%) dans les tiges : (+90%) et surtout dans les racines : (+132%). Pendant ce temps, le taux de calcium varie de +60% dans les limbes, de +7% seulement dans les tiges et de +348% dans les racines.

Le rapport acide citrique/calcium est donc peu modifié dans les limbes, il augmente de +78% dans les tiges et diminue de -52% dans les racines.

Le stade 6 F peut ainsi être caractérisé par une acidification organique intense, provoquant un excès d'anions organiques par rapport aux cations minéraux. Ce phénomène est particulièrement important au niveau des tiges.

- Enfin, à la floraison, l'acidité organique totale du Lupin chlorosé est toujours supérieure à celle de la plante saine ; + 60% dans les limbes, + 23% dans les tiges et + 9% dans les racines, mais la plante malade se trouve alors envahie par les éléments minéraux. La teneur globale (K + Ca + Mg) s'est accrue par rapport au témoin de 87% dans les limbes, de 62% dans les tiges et de 40% dans les racines. Les valeurs du rapport $\frac{\text{acides organiques}}{\text{cations minéraux}}$ diminuent par rapport à la plante saine. Les variations relatives sont de - 14% dans les limbes, de - 26% dans les tiges et de - 54% dans les racines. Dans les organes souterrains, les cations minéraux arrivent même à être plus abondants que les acides organiques (figure 8).

Comparé à la plante saine, le taux d'acide citrique augmente respectivement de 77%,de 54% et de 195% dans les limbes, les tiges et les racines. Toutefois, cet accroissement reste inférieur à celui du calcium. Le taux de ce dernier augmente par rapport à la plante saine, de 90% dans les limbes, de 108% dans les tiges et de 430% dans les racines.

Ainsi la chlorose calcaire a pour effet de diminuer le rapport $\frac{\text{acide citrique}}{\text{calcium}}$ de 10% environ dans les feuilles, de 25% dans les tiges et de 43% dans les racines de Lupin blanc.

En résumé :

Cultivé sur sol riche en calcaire, le Lupinus albus présente très rapidement (stade 2 F) des perturbations concernant l'absorption du calcium mais les teneurs globales en principaux cations minéraux et en acides organiques ne sont pas encore modifiées. Le jaunissement internervaire des limbes apparait ensuite : au cours de cette période les feuilles et les tiges sont l'objet d'une importante acidification organique. Ce phénomène précède l'invasion massive de la plante par les minéraux.

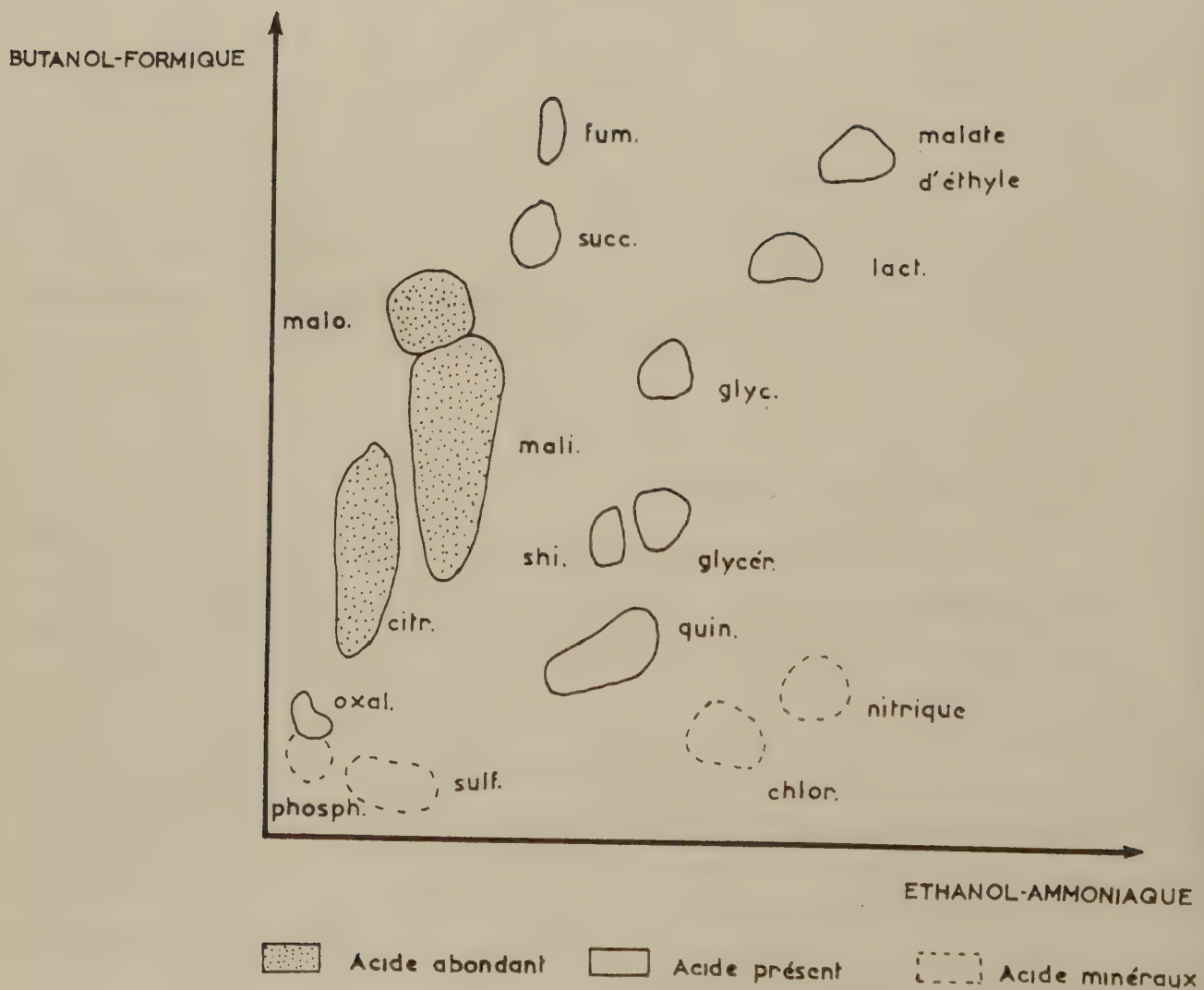
C - LES DIVERS ACIDES ORGANIQUES

Par chromatographie bidimensionnelle sur papier, nous avons pu identifier des acides du cycle tricarboxylique (malique, citrique, succinique, fumarique), des acides généralement liés au cycle des cétoses (glycérique et glycolique), quelques composés aromatiques (shikimique et quinique) et enfin, les acides malonique, lactique et oxalique (figure 9).

Parmi tous ces composés, les acides citrique, malique et malonique sont de beaucoup les plus abondants dans le Lupin. Ils sont responsables à eux seuls de plus de 90% de l'acidité organique totale de cette plante. C'est pourquoi nous exposerons d'abord, les résultats de nos analyses concernant l'action du calcaire sur l'évolution du taux de ces acides dans les différents organes de la plante.

Les acides quinique et shikimique s'accumulent peu dans le Lupin. Les teneurs en ces composés sont trop faibles pour envisager une étude de leur évolution. Cependant, nous avons déjà signalé, dans la première partie de ce travail, que les variations de ces acides pouvaient être liées au caractère "sensible" de cette espèce. C'est pourquoi, bien que fragmentaire, nous donnerons ici les résultats d'une étude quantitative de ces deux acides, faite sur des limbes du Lupin récolté au stade 6 F lorsque la chlorose calcaire est bien déclarée.

Fig. 9



CHROMATOGRAMME TYPE REPRESENTANT la POSITION et l'IMPORTANCE des PRINCIPAUX ACIDES ORGANIQUES et MINERAUX, mis en évidence chez le LUPINUS ALBUS

I - L'ACIDE CITRIQUE

Les teneurs en acide citrique ont été déterminées dans les différents organes du Lupin cultivé comparativement sur sol pauvre ou riche en calcaire actif. La figure 10 illustre l'évolution du taux de ce composé en fonction de l'âge de la plante.

Nous pouvons constater que cet acide est surtout abondant dans les organes de réserve (cotylédons) et dans les racines (tableau XXIV).

a) *Les cotylédons*

L'acide citrique représente 99% des acides organiques non volatils des cotylédons de la graine du Lupin. Sa teneur est de l'ordre de 10,7 meq/100 g frais. Au moment de la germination, alors que l'acidité globale augmente, le taux de l'acide citrique diminue rapidement. Les cotylédons de la jeune plantule de Lupin sain renferment 3,3 meq/100 g frais au stade 2 F. Leur teneur n'est plus que de 2 meq/100 g frais au stade 4 F. Le pourcentage de l'acide citrique par rapport aux autres acides représente alors 14,5%.

Lorsque le Lupin est cultivé sur sol calcaire, l'appauvrissement des cotylédons en acide citrique est plus tardif. Au stade 2 F leur teneur atteint encore 5,8 meq. au stade 4 F, elle est de 2,7 meq environ. L'acide citrique représente alors 20% de l'ensemble des acides organiques présents dans les tissus cotylédonaires.

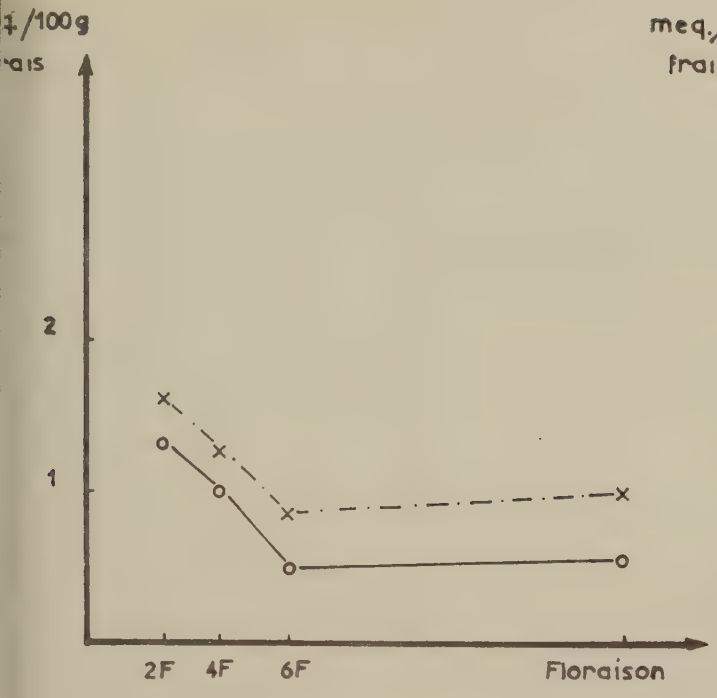
b) *Les limbes et les tiges*

L'acide citrique est relativement peu abondant dans les limbes et les tiges du Lupin. Sa teneur est de l'ordre de 1,3 meq/100 g frais dans les jeunes feuilles au stade 2 F, elle diminue jusqu'à la chute des cotylédons, époque où elle atteint 0,5 meq/100 g frais; elle se maintient ensuite à cette valeur jusqu'à la floraison.

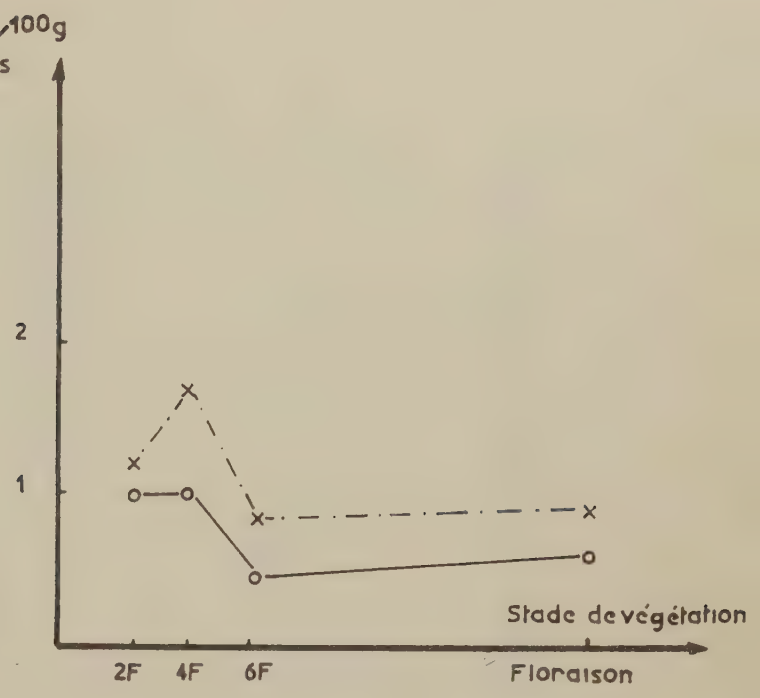
La chlorose calcaire s'accompagne d'une augmentation du taux de cet acide. L'accroissement relatif, par rapport à la plante saine, est de 23% dans les jeunes limbes et de 65% au moment de la floraison. Ce phénomène déjà apparent au début de la végétation, s'accentue ensuite jusqu'au stade 6 F, puis se maintient ensuite au fur et à mesure que la plante vieillit (figure 10).

Il est intéressant de remarquer que, dans toutes les parties aériennes du Lupin, la chlorose a pour conséquence d'accroître la teneur en acide citrique, mais elle ne modifie pas l'évolution normale de ce composé. En effet, bien que plus abondant dans les tissus malades, le taux d'acide citrique diminue au cours du développement de la plante comme dans la plupart des végétaux annuels.

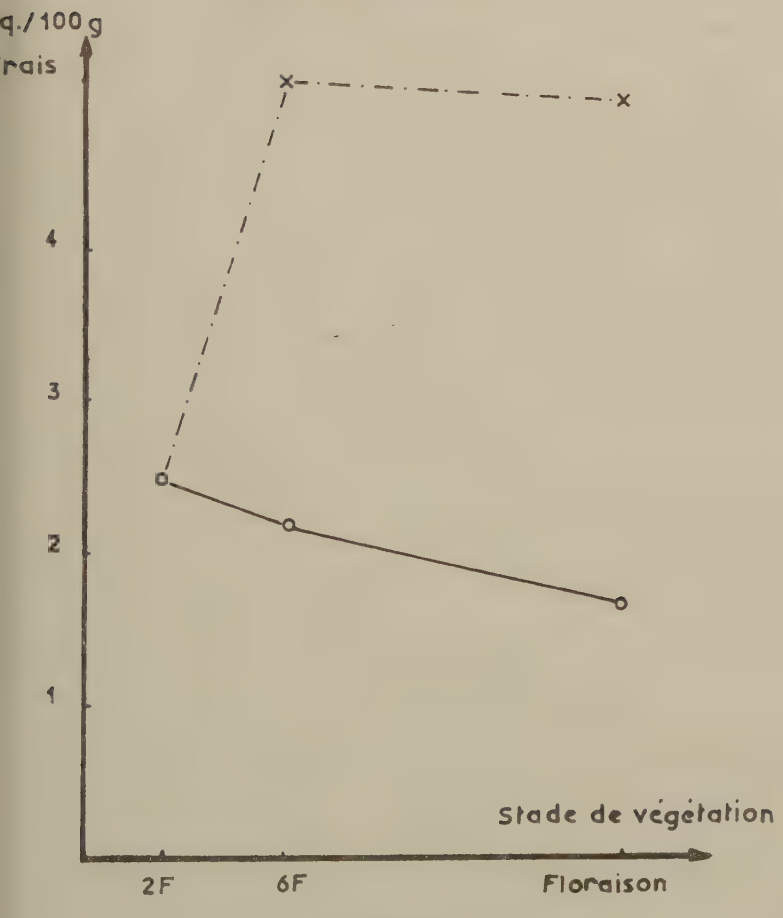
Fig. 10



LIMBES



TIGES



RACINES

cultivé sur sol pauvre en calcaire

cultivé sur sol riche en calcaire

EVOLUTION du TAUX d'ACIDE CITRIQUE dans les DIFFERENTS

ORGANES du LUPINUS ALBUS

TABLEAU XXIV

EFFETS D'UN SOL RICHE EN CALCAIRE SUR LES TENEURS EN ACIDE CITRIQUE DES DIFFERENTS ORGANES DU LUPINUS ALBUS AU COURS DE SON DEVELOPPEMENT

(exprimées en meq/100 g frais)

I = Sol témoin pauvre en calcaire
II = Sol riche en calcaire
V = VARIATION RELATIVE (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire)

Stades de végétation		2 F			4 F			6 F			Floraison		
		I	II	V	I	II	V	I	II	V	I	II	V
Graine	10,7												
Cotylédons		3,3	5,8	+ 75	2,0	2,7	+ 35	-	-		-	-	
Limbes		1,3	1,6	+ 23	1,0	1,25	+ 25	0,50	0,83	+ 66	0,55	0,91	+ 65
Tiges		1,0	1,2	+ 20	1,0	1,7	+ 70	0,45	0,85	+ 90	0,57	0,88	+ 55
Racines		2,5	2,5	0	-	-		2,2	5,1	+130	1,7	5,0	+195

c) *Les racines*

Relativement abondant dans les jeunes racines des cultures témoin (2,5 meq/100 g frais) le taux en acide citrique diminue régulièrement au cours de la végétation. Il est de l'ordre de 1,7 meq/100 g frais au moment de la floraison.

Par contre, lorsque les cultures sont effectuées sur un sol riche en calcaire, la chlorose provoque dans les racines du Lupin un net accroissement d'acide citrique. La teneur de ce dernier augmente avec l'âge de la plante (de 2,5 meq au stade 2 F à 5 meq à la floraison) allant ainsi en sens inverse de l'évolution normale de ce composé dans les racines de Lupin sain. Au moment de la floraison, les organes souterrains des cultures chlorosées sont trois fois plus riches en acide citrique que les racines témoin. Ce composé peut atteindre 36% de l'ensemble des acides alors que normalement il ne représente que 13%.

En résumé :

La concentration en acide citrique du Lupin augmente toujours avec la chlorose calcaire. Toutefois, cette accumulation ne se fait pas de façon homogène dans l'ensemble de la plante et dans le temps. Au début de la végétation, elle est relativement élevée dans les cotylédons (augmentation de + 75% par rapport au témoin), plus faible dans les limbes (+ 23%) et dans les tigelles (+ 20%) et pratiquement nulle dans les jeunes racines. Au cours de la végétation,le lieu d'accumulation de l'acide citrique change. Dès la chute des cotylédons on constate, par rapport au témoin, un accroissement du taux de ce composé, de 66% dans les limbes, de 90% dans les tiges et de 130% dans les racines. A la floraison, les organes souterrains du Lupin chlorosé sont saturés en acide citrique.

2 - L'ACIDE MALIQUE

Présent uniquement à l'état de trace dans la graine du Lupin, l'acide malique apparait très tôt au cours de la germination et devient rapidement l'acide le plus abondant de la jeune plante.

Les variations de la teneur en acide malique des différents organes du Lupin sont représentées dans le tableau XXV et la figure 11.

a) *Les cotylédons*

Ces organes verdissent rapidement lorsqu'ils sortent de terre. Leur teneur en acide malique est de l'ordre de 6,1 meq/100 g frais au stade 2 F et de 7,9 meq. au stade 4 F.

TABLEAU XXV

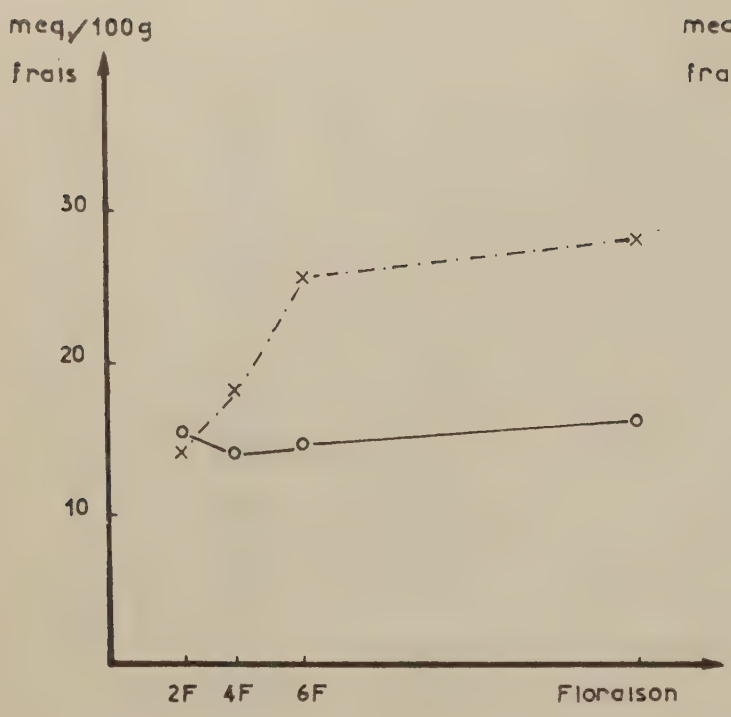
EFFETS D'UN SOL RICHE EN CALCAIRE SUR LES TENEURS EN ACIDE MALIQUE DES DIFFERENTS ORGANES DU LUPINUS ALBUS AU COURS DE SON DEVELOPPEMENT

(exprimées en meq/100 g de mat. frais)

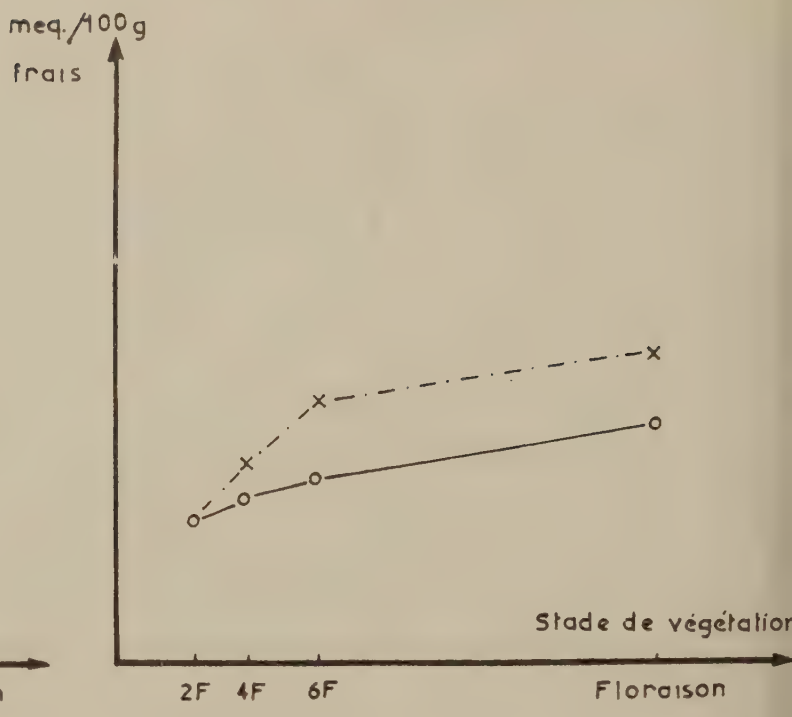
I = Sol témoin pauvre en calcaire
II = Sol riche en calcaire
V = Variation relative (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire)

Stades de végétation		2 F			4 F			6 F			FLORAISON		
		I	II	V	I	II	V	I	II	V	I	II	V
Graine	traces												
Cotylédons		6,1	6,5	+ 6	7,9	8,4	+ 16						
Limbes		15,3	14,1	- 8	13,9	18,2	+ 31	14,7	25,5	+ 73	16,2	27,7	+ 70
Tiges		9,5	9,5	0	11	13,1	+ 19	12	16,9	+ 41	15,6	19,7	+ 26
Racines		4,5	6	+ 33	-	-		10,3	9,4	- 9	8,8	7,7	- 12

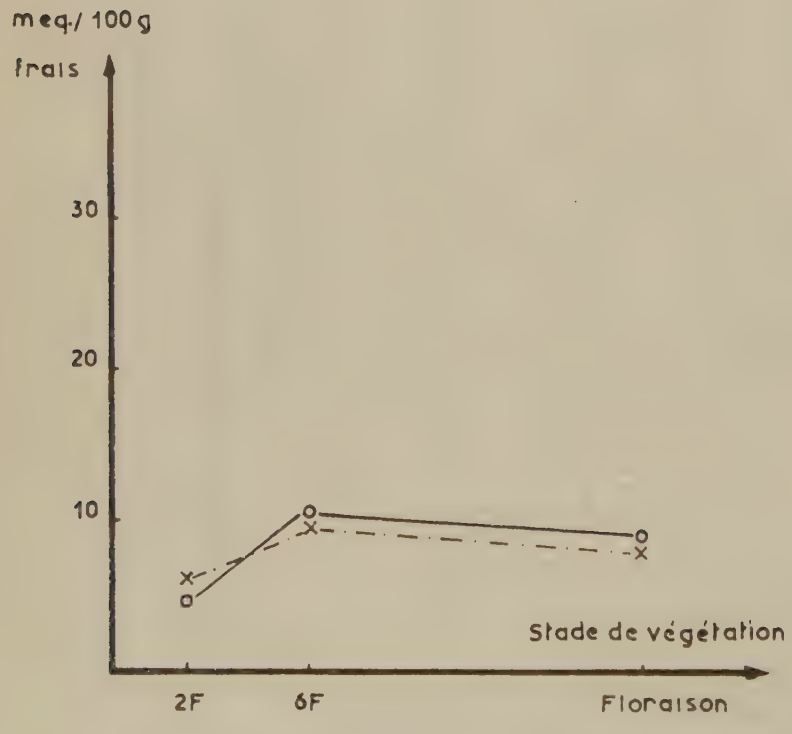
Fig. 11



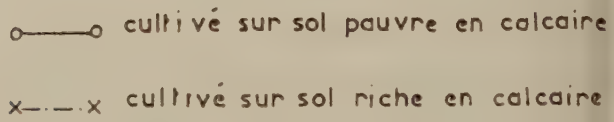
LIMBES



TIGES



RACINES



EVOLUTION du TAUX d'ACIDE MALIQUE dans les DIFFERENT

ORGANES du LUPINUS ALBUS

Les cotylédons des cultures chlorosées présentent des teneurs plus élevées en acide malique. Comparée au témoin, l'augmentation est faible au stade 2 F : + 6% mais elle s'accentue par la suite : + 16% au stade 4 F.

b) *Les limbes et les tiges*

Dans les limbes du Lupin sain, les teneurs en acide malique varient peu au cours de la végétation. (de 15,3 meq/100 g frais au stade 2 F à 16,2 meq à la floraison).

Les limbes des cultures chlorosées présentent, par contre, une nette accumulation d'acide malique. L'augmentation du taux de cet acide apparait dès le stade 4 F (elle est alors de + 31% par rapport au témoin), puis elle s'accentue très rapidement jusqu'au stade 6 F (+ 73%), elle se maintient ensuite à cette valeur jusqu'à la floraison (figure 11).

Dans les tiges du Lupin chlorosé nous constatons un phénomène analogue mais de moins grande importance. Dès le stade 4 F la teneur en acide malique des tiges malades augmente plus rapidement. A la floraison, elle atteint 19,7 meq/100 g frais, alors que celle des tiges saines est de l'ordre de 15,6 meq.

c) *Les racines*

Le sol calcaire provoque une augmentation du taux d'acide malique dans les racines du jeune Lupin (+ 33% par rapport au témoin), mais par la suite, la teneur de ce composé semble au contraire diminuer.
On constate une légère baisse (de l'ordre de 8 à 12%) dans les racines du Lupin chlorosé du stade 6 F à la floraison (tableau XXV, figure 11).

3 - L'ACIDE MALONIQUE

Nous avons rassemblé dans le tableau XXVI et la figure 12 les principaux résultats concernant l'évolution des teneurs en acide malonique dans le Lupin.

a) *Les cotylédons*

Pratiquement absent dans la graine du Lupin, l'acide malonique apparait très vite au cours de la germination. Les cotylédons deviennent alors les organes de la plante où ce composé s'accumule le plus. Dès que les premières feuilles se développent, il représente 19% de l'acidité organique totale soit une teneur de 2,3 meq/100 g frais. Ce taux augmente légèrement jusqu'à 2,5 meq.

Lorsque le Lupin est cultivé sur sol calcaire, l'accroissement du taux de l'acide malonique se produit dans les cotylédons beaucoup plus tardivement.

TABLEAU XXVI

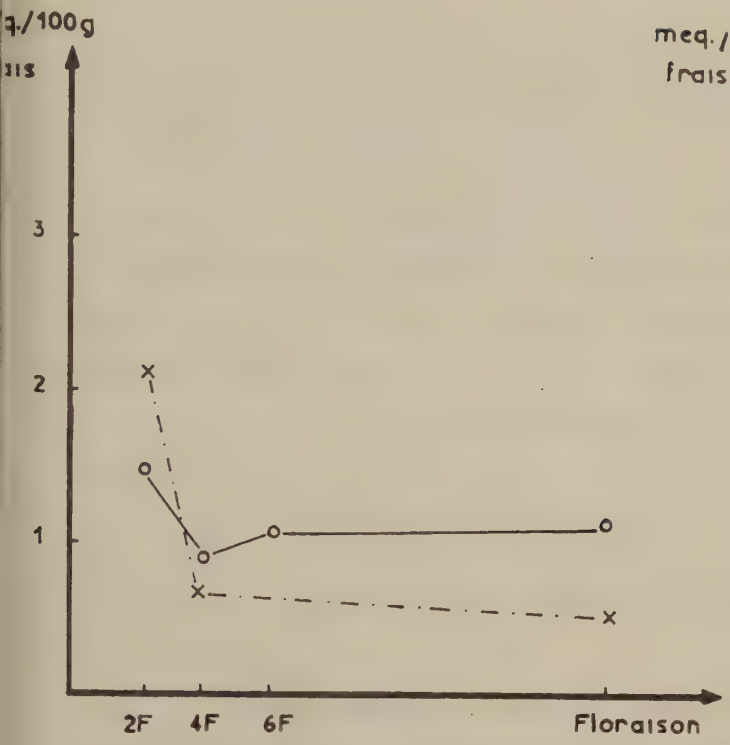
EFFETS D'UN SOL RICHE EN CALCAIRE SUR LES TENEURS EN ACIDE MALONIQUE DES DIFFERENTS ORGANES DU LUPINUS ALBUS AU COURS DE SON DEVELOPPEMENT

(exprimées en meq/100 g de mat.frais)

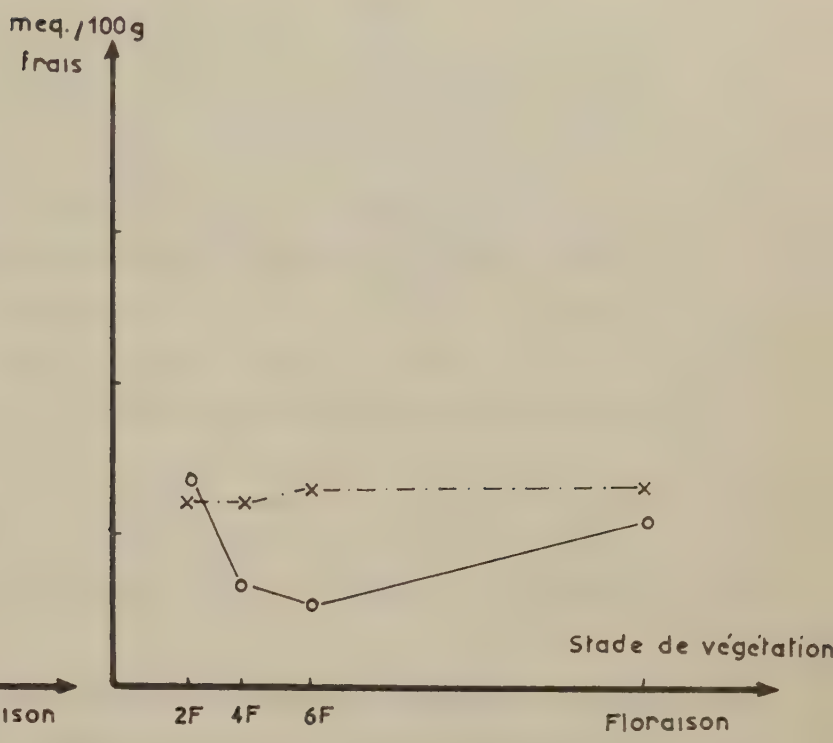
I - Sol témoin pauvre en calcaire
II - Sol riche en calcaire
V - Variation relative (exprimée en % par rapport aux résultats obtenus sur sol pauvre en calcaire)

Stades de végétation		2 F			4 F			6 F			FLORAISON		
		I	II	V	I	II	V	I	II	V	I	II	V
Graine	traces												
Cotylédons		2,3	1,25	- 45	2,5	1,86	- 25	-					
Limbes		1,45	2,10	+ 45	0,9	0,67	- 15	1,05			1,1	0,5	- 55
Tiges		1,35	1,20	- 11	0,68	1,20	+ 76	0,54	1,28	+135	1,1	1,3	+ 18
Racines		1,0	0,7	- 29	-	-		1,25	0,60	- 52	1,7	0,7	- 59

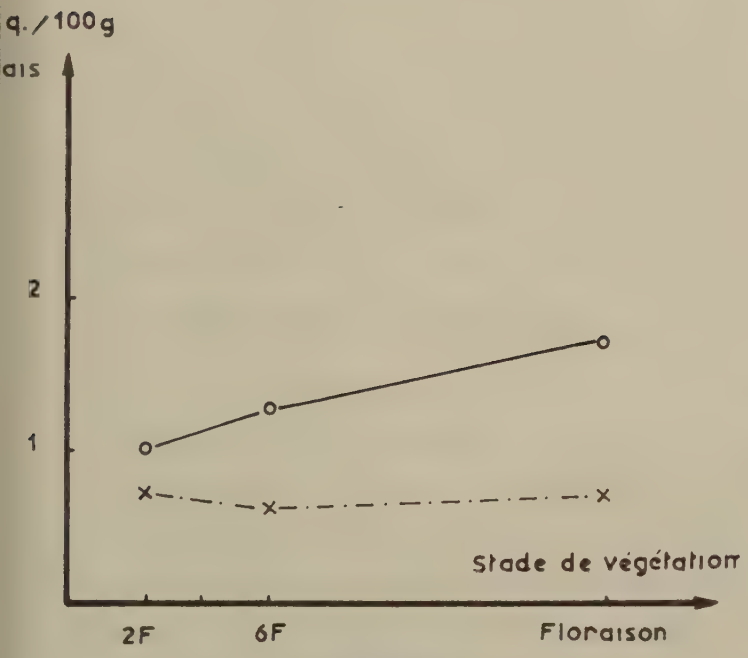
Fig. 12



LIMBES



TIGES



RACINES

o——o cultivé sur sol pauvre en calcaire

x—·—·x cultivé sur sol riche en calcaire

EVOLUTION du TAUX d'ACIDE MALONIQUE dans les DIFFERENTS ORGANES du LUPINUS ALBUS

b) *Les limbes et les tiges*

De l'ordre de 1,45 meq/100 g frais dans les jeunes limbes de Lupin sain, le taux d'acide malonique diminue ensuite : il se maintient à une valeur voisine de 1 meq du stade 4 F à la floraison.

Les feuilles du Lupin chlorosé présentent,au début de la végétation, des teneurs plus élevées (2,10 meq/100 g frais). Ce qui représente une variation relative de + 45% par rapport au témoin. Mais, à partir du stade 4 F, les limbes malades s'appauvrissent en acide malonique (-25%). Ce déficit s'accentue avec l'âge de la plante (-55% à la floraison).

La jeune tige du Lupin sain renferme environ 1,35 meq d'acide malonique dans 100 g de tissus frais. Cette teneur diminue ensuite lorsque la plante traverse sa période de croissance intense. (0,68 meq au stade 4 F et 0,54 meq au stade 6 F). Elle augmente à nouveau quand le Lupin arrive à la floraison.

Cette plus grande utilisation de l'acide malonique au moment de la croissance active de la tige ne semble pas se produire dans la tige chlorosée (tableau XXVI).

c) *Les racines*

Nous avons enfin constaté une diminution du taux de l'acide malonique au niveau des racines du Lupin chlorosé. Alors que dans les tissus sains sa teneur augmente progressivement au cours de la végétation (1 meq au stade 2 F, 1,25 meq au stade 6 F et 1,7 meq à la floraison) dans les racines malades, elle est plus faible et reste constante aux environs de 0,7 meq/100 g frais (figure 12).

4 - LES ACIDES SHIKIMIQUE ET QUINIQUE

Ces composés apparaissent dans la jeune plantule du Lupin, après l'étalement des cotylédons, au moment où les deux premières feuilles se développent J. CARLES et F. LATTES (1959). Leurs teneurs deviennent ensuite très faibles. Nous les avons cependant mesurées dans les limbes du Lupin récolté au stade 6 F.

Les feuilles du Lupin sain renferment à cette période environ 0,13 meq/100 g frais d'acide shikimique et 0,7 meq/100 g frais, d'acide quinique.

L'analyse des tissus chlorosés montre une diminution de la teneur en

ces composés. Les limbes malades ne possèdent plus que 0,11 meq. d'acide shikimique/100 g frais, ce qui représente une baisse de 15% environ par rapport au témoin, et l'acide quinique ne subsiste plus qu'à l'état de trace : 0,02 meq/100 g frais.

Un sol riche en calcaire échangeable a pour conséquence une diminution des teneurs en acides shikimique et quinique dans le Lupinus albus.

En résumé :

L'étude des divers acides organiques du Lupinus albus nous a permis de constater que :

- l'augmentation de l'acidité organique totale des limbes chlorosés est dûe en majeure partie à l'acide malique. L'acide citrique s'accumule en moins grandes quantités. Par contre les teneurs en acide shikimique quinique et malonique diminuent.
- dans les tiges, les acides citrique, malique et malonique interviennent tous trois à des degrés divers dans l'accroissement de l'acidité organique totale de la plante malade.
- enfin, bien que la teneur globale en acides des racines du Lupin chlorosé ne présente guère de grandes variations comparée au témoin, nous avons constaté cependant d'importantes modifications en ce qui concerne les teneurs des divers acides : l'acide citrique s'accumule nettement dans les racines malades, l'acide malique varie peu et l'acide malonique diminue.

D - LES ACIDES AMINES LIBRES

Parallèlement à l'étude des acides organiques, il est possible de suivre les variations des teneurs en acides aminés libres des différents organes du Lupin. Nous n'exposerons ici que les principaux résultats concernant les effets d'un sol calcaire sur la composition et les teneurs en acides aminés des limbes et des racines de cette plante.

Pour faciliter l'interprétation de nos analyses, nous avons classé les acides aminés selon les groupes communément admis de l'alanine, de l'acide aspartique, de l'acide glutamique : le 4ème groupe comprend des composés à structure cyclique.

Le Lupinus albus est une plante particulièrement riche en asparagine. Ce mono-amide de l'acide aspartique représente près de 80% de la fraction organique révélable à la ninhydrine. Notre technique d'analyse ne nous a pas permis de la séparer, vu son importance, de la thréonine et de la sérine.

C'est la raison pour laquelle nous placerons dans nos tableaux, la sérine avec le groupe de l'acide aspartique au lieu de celui de l'alanine.

1 - LES LIMBES DU LUPINUS ALBUS

L'ensemble des acides aminés libres et de l'asparagine augmente dans les limbes du Lupin blanc lorsque celui-ci est cultivé sur sol riche en calcaire. La teneur globale de ces composés est de l'ordre de 2865 µ mol/100g frais dans les feuilles saines, elle atteint 6385 µ mol dans les tissus chlorosés, soit une augmentation de 120% environ (tableau XXVII).

L'ensemble du groupe de l'alanine augmente en quantité, de 147 µ mol à 178 µ mol/100 g frais, ce qui représente un accroissement de 20% environ. Mais les acides aminés libres des autres groupes s'accumulent davantage encore, et de ce fait, la proportion globale des acides métaboliquement liés à l'alanine diminue. De 5,10% dans les limbes sains elle passe à 2,78% dans les tissus chlorosés.

Les composés liés à l'acide aspartique présentent de grandes variations quantitatives avec la chlorose calcaire. Les limbes malades sont cinq fois plus riches en acide aspartique que les feuilles saines. La teneur en (thréonine + asparagine + Sérine) a plus que doublé, par contre la lysine et l'isoleucine diminuent.

L'acide glutamique s'accumule légèrement dans les limbes du Lupin chlorosé : sa teneur s'accroit de 16% seulement. Par contre nous avons pu constater une importante augmentation du taux de proline (300%) et d'ornithine (140%) . L'acide γ amino-butyrique et l'arginine diminuent dans les limbes de Lupin blanc cultivé sur calcaire.

Enfin les teneurs en acides aminés à structure cyclique (tyrosine, phénylalanine, tryptophane et histidine) ont été déterminées. Elles représentent une très faible fraction des acides aminés totaux des limbes du Lupin (0,58%). Dans les cultures saines, 100 g frais de tissus foliaires renferment environ 3,2 µ mol de tyrosine, 4 µ mol de phénylalanine, 6,6 µ mol d'histidine et 2,9 µ mol de tryptophane. Dans les cultures chlorosées seule la phénylalanine a pu être mise en évidence en quantité dosable (4,9 µ mol/100 g frais).

2 - LES RACINES DU LUPINUS ALBUS

La chlorose calcaire a pour effet d'augmenter de 20% environ la concentration en acides aminés libres et en asparagine des racines du Lupin. Dans les échantillons analysés : elle est de l'ordre de 212 µ mol pour 100 g frais pour les racines témoin et de 256 µ mol pour les tissus malades (tableau XXVIII).

TABLEAU XXVII

ANALYSE COMPARATIVE DES ACIDES AMINES LIBRES DANS LES LIMBES DU LUPINUS ALBUS CULTIVE SUR SOL PAUVRE EN CALCAIRE (I) OU SUR SOL RICHE EN CALCAIRE(II)

Teneur (exprimée en µ mol pour 100 g de tissus frais)
Proportion (pour %)

	TENEUR		PROPORTION	
	I	II	I	II
α Alanine	114,5	153	3,98	2,4
Glycine	5,1	5,3	0,18	0,08
Leucine	7,1	0,5	0,24	0,01
Valine	13,9	19,6	0,48	0,30
Cystine	6,6	-	0,22	-
Ac. Aspartique	40,2	234	1,39	3,66
Thréonine+(asparagine + sérine)	2400	5600	83,76	87,7
Lysine	35,4	15,7	1,23	0,24
Isoleucine	11	-	0,38	-
Ac. glutamique	62,5	72,5	2,17	1,13
γ amino-butyrique	81	76	2,82	1,18
Proline	43	173	1,5	2,71
Arginine	11,8	5	0,41	0,08
Ornithine	3,8	9,2	0,13	0,14
Tyrosine	3,2	-	0,11	-
Phénylalanine	4	4,9	0,14	0,07
Histidine	6,6	-	0,23	-
Tryptophane	2,9	-	0,10	-
Teneur globale	2865,5	6385,6	100	100

C'est la raison pour laquelle nous placerons dans nos tableaux, la sérine avec le groupe de l'acide aspartique au lieu de celui de l'alanine.

1 - LES LIMBES DU LUPINUS ALBUS

L'ensemble des acides aminés libres et de l'asparagine augmente dans les limbes du Lupin blanc lorsque celui-ci est cultivé sur sol riche en calcaire. La teneur globale de ces composés est de l'ordre de 2865 µ mol/100g frais dans les feuilles saines, elle atteint 6385 µ mol dans les tissus chlorosés, soit une augmentation de 120% environ (tableau XXVII).

L'ensemble du groupe de l'alanine augmente en quantité, de 147 µ mol à 178 µ mol/100 g frais, ce qui représente un accroissement de 20% environ. Mais les acides aminés libres des autres groupes s'accumulent davantage encore, et de ce fait, la proportion globale des acides métaboliquement liés à l'alanine diminue. De 5,10% dans les limbes sains elle passe à 2,78% dans les tissus chlorosés.

Les composés liés à l'acide aspartique présentent de grandes variations quantitatives avec la chlorose calcaire. Les limbes malades sont cinq fois plus riches en acide aspartique que les feuilles saines. La teneur en (thréonine + asparagine + Sérine) a plus que doublé, par contre la lysine et l'isoleucine diminuent.

L'acide glutamique s'accumule légèrement dans les limbes du Lupin chlorosé : sa teneur s'accroit de 16% seulement. Par contre nous avons pu constater une importante augmentation du taux de proline (300%) et d'ornithine (140%) . L'acide γ amino-butyrique et l'arginine diminuent dans les limbes de Lupin blanc cultivé sur calcaire.

Enfin les teneurs en acides aminés à structure cyclique (tyrosine, phénylalanine, tryptophane et histidine) ont été déterminées. Elles représentent une très faible fraction des acides aminés totaux des limbes du Lupin (0,58%). Dans les cultures saines, 100 g frais de tissus foliaires renferment environ 3,2 µ mol de tyrosine, 4 µ mol de phénylalanine, 6,6 µ mol d'histidine et 2,9 µ mol de tryptophane. Dans les cultures chlorosées seule la phénylalanine a pu être mise en évidence en quantité dosable (4,9 µ mol/100 g frais).

2 - LES RACINES DU LUPINUS ALBUS

La chlorose calcaire a pour effet d'augmenter de 20% environ la concentration en acides aminés libres et en asparagine des racines du Lupin. Dans les échantillons analysés : elle est de l'ordre de 212 µ mol pour 100 g frais pour les racines témoin et de 256 µ mol pour les tissus malades (tableau XXVIII).

TABLEAU XXVII

ANALYSE COMPARATIVE DES ACIDES AMINES LIBRES DANS LES LIMBES DU LUPINUS ALBUS CULTIVE SUR SOL PAUVRE EN CALCAIRE (I) OU SUR SOL RICHE EN CALCAIRE(II)

Teneur (exprimée en µ mol pour 100 g de tissus frais)
Proportion (pour %)

	TENEUR		PROPORTION	
	I	II	I	II
α Alanine	114,5	153	3,98	2,4
Glycine	5,1	5,3	0,18	0,08
Leucine	7,1	0,5	0,24	0,01
Valine	13,9	19,6	0,48	0,30
Cystine	6,6	-	0,22	-
Ac. Aspartique	40,2	234	1,39	3,66
Thréonine+(asparagine + sérine)	2400	5600	83,76	87,7
Lysine	35,4	15,7	1,23	0,24
Isoleucine	11	-	0,38	-
Ac. glutamique	62,5	72,5	2,17	1,13
γ amino-butyrique	81	76	2,82	1,18
Proline	43	173	1,5	2,71
Arginine	11,8	5	0,41	0,08
Ornithine	3,8	9,2	0,13	0,14
Tyrosine	3,2	-	0,11	-
Phénylalanine	4	4,9	0,14	0,07
Histidine	6,6	-	0,23	-
Tryptophane	2,9	-	0,10	-
Teneur globale	2865,5	6385,6	100	100

TABLEAU XXVIII

ANALYSE COMPARATIVE DES ACIDES AMINES LIBRES DANS LES RACINES DU LUPINUS ALBUS CULTIVE SUR SOL PAUVRE EN CALCAIRE (I) OU SUR SOL RICHE EN CALCAIRE (II)

Teneur (exprimée en µ mol pour 100 g de tissus frais)
Proportion (pour %)

	TENEUR		PROPORTION	
	I	II	I	II
α Alanine	34,5	13,6	16,2	5,3
Glycine	1,8	1,7	0,86	0,65
Leucine	2,6	2,6	1,3	1
Valine	9,15	10,4	4,3	4,05
Ac. Aspartique	46,6	101,5	21,9	39,5
Thréonine (+ Asparagine + Sérine)	39,7	73,3		
Lysine	3,6	1,5	1,7	0,6
Isoleucine	5,5	5,8	1,6	2,3
Methionine	2,3	5,4	1	2,1
Ac. Pipécolique	0,3	3,3	0,15	1,3
Ac. Glutamique	28,4	12,5	13,3	4,8
γ amino-butyrique	21,8	5	10,25	1,95
Proline	3,45	1,8	1,6	0,7
Arginine	1,6	1,35	0,75	0,5
Tyrosine	1,9	2,35	0,9	0,9
Phénylalanine	1,7	1,25	0,8	0,5
Histidine	0,9	1,3	0,4	0,5
autres composés aminés	3,3	4,75	6,2	11,4
Teneur globale	212	256	100	100

Cet accroissement de 20% est dû essentiellement à l'acide aspartique et à l'asparagine. Ces deux composés représentent 32,6% de l'ensemble des substances révélables à la ninhydrine dans les racines saines et 59,5% dans les racines malades

L' α alanine est relativement abondante dans les racines du Lupin sain. Sa teneur est de l'ordre de 34 µ mol/100 g frais et elle représente 16% de l'ensemble des acides aminés. Dans la plante chlorosée, sa teneur diminue, elle n'atteint que 13,6 µ mol : ce composé ne représente alors que 5,3% de l'ensemble des substances révélables à la nihydrine.

Les teneurs des autres acides aminés reliés à ce groupe (glycine, leucine et valine) semblent peu perturbées par un apport accru de calcaire dans le milieu.

Nous avons pu constater une augmentation de la teneur de la plupart des acides rattachés à l'acide aspartique. Ce dernier augmente de 46,6 à 101,5 µ mol/100 g frais (soit une variation relative de + 117%). L'ensemble thréonine + asparagine + sérine) s'accroit de 85%. Les autres composés : isoleucine, méthionine, acide pipécolique, bien que beaucoup moins abondants, s'accumulent également dans les racines de Lupin chlorosé. Seulela lysine semble diminuer.

Par contre, nous avons observé dans les racines malades, une très nette baisse de taux de l'acide glutamique ainsi que de la plupart des composés qui sont métaboliquement rattachés à cet acide. Comparée à la plante saine, la teneur en acide glutamique des racines chlorosées diminue de 56%, celle du γ amino-butyrique de 73%, celle de la proline de 48% et celle de l'arginine de 16%.

Enfin, les acides aminés du quatrième groupe (tyrosine, phénylalanine, histidine) sont très peu abondants. La proportion de chacun d'eux est inférieure à 1% et leur variation en fonction de la chlorose calcaire restent chez le Lupin, peu significative.

En résumé :

Une nutrition riche en calcaire a pour conséquence d'augmenter les teneurs en acides aminés libres et en asparagine du Lupinus albus.

- Dans les limbes, ce phénomène est très important (+ 120%). L'ensemble des groupes de l'alanine, de l'acide aspartique et de l'acide glutamique participe à cette accumulation, mais la part prise par l'asparagine et surtout l'acide aspartique est considérable. Par contre un grand nombre de composés à structure cyclique (tyrosine, histidine et tryptophane) diminue.

- Au niveau des racines, l'enrichissement global en acides aminés libres et en asparagine est bien moindre (+ 20%). Il résulte en grande partie de l'augmentation des teneurs en acide aspartique et en asparagine. Les acides métaboliquement liés à l'acide glutamique diminuent dans les racines de Lupin chlorosé.

DISCUSSIONS ET CONCLUSIONS DE LA DEUXIEME PARTIE

Quelques faits essentiels ressortent de l'ensemble de nos recherches physiologiques entreprises sur le Lupinus albus. Nous retiendrons surtout que :

1°) - L'abondance du CO_3Ca dans le milieu affecte peu et tardivement l'état hydrique du Lupin. Elle provoque une importante perturbation dans le développement de ce végétal. Toutefois cette anomalie apparait postérieurement au jaunissement des limbes et peut donc être considérée comme une conséquence secondaire dûe à une diminution des capacités synthétiques de la plante.

2°) - Le Lupin chlorosé est l'objet d'une importante augmentation des teneurs globales en K + Ca + Mg et plus particulièrement en calcium. La répartition de cet élément dans l'ensemble de la plante est modifiée en faveur des racines et des tiges.

3°) - La chlorose affecte davantage la teneur en chlorophylles que l'activité photosynthétique des pigments eux-mêmes. Les glucides solubles synthétisés en moins grande quantité s'accumulent dans les limbes.

4°) - Les parties aériennes de la plante sont l'objet d'un important accroissement de la teneur en anions organiques dû en grande partie à l'acide malique. Par contre, les acides shikimique et quinique disparaissent.

5°) - Les racines maintiennent relativement constante leur acidité organique totale mais les teneurs des divers acides présentent de grandes variations. L'acide citrique s'accumule nettement dans les racines de Lupin chlorosé.

6°) - Un sol riche en calcaire fait apparaitre enfin, d'importantes proportions d'amino-acides libres, indice de déviations du métabolisme azoté. Ces modifications diffèrent selon l'organe considéré.

Ce rapide résumé des principaux résultats obtenus montre combien la composition minérale et organique du Lupinus albus est modifiée par une nutrition riche en calcaire.

Bien que très dépendants les uns des autres, les changements ainsi observés peuvent être liés à des phénomènes physiologiques distincts : absorption, transport, respiration, métabolisme intermédiaire, etc...

Nous allons essayer dans la discussion d'envisager de façon groupée les variations susceptibles d'être associées à un même phénomène physiologique.

I - LES EFFETS DE LA CHLOROSE CALCAIRE SUR LES MINERAUX ET LEURS EQUILIBRES AVEC LES ANIONS ORGANIQUES

Rappelons très rapidement que les éléments minéraux sont sélectivement absorbés par les racines soit sous forme ionique soit sous forme de chélates. Ils sont ensuite transportés dans l'ensemble de la plante par les tissus conducteurs. Une grande partie se localisent alors dans les vacuoles où ils jouent un rôle important dans la pression osmotique (P.O.) et le pH. Seuls les minéraux sous forme ionique sont susceptibles de participer directement au métabolisme cellulaire.

Plusieurs processus caractérisent donc le métabolisme minéral d'une plante :

- l'absorption des cations par les racines
- leur migration dans les divers organes de la plante et leur répartition dans les différents compartiments cellulaires
- leur rôle physiologique.

a) - L'absorption des cations

Nous n'avons pas abordé dans ce travail l'étude de l'absorption des cations par les racines. En effet, notre expérimentation a été surtout conçue pour étudier la répartition et la teneur en minéraux dans l'ensemble de la plante. Elle nous a permis de constater qu'une nutrition riche en calcaire provoque chez le Lupin blanc une accumulation excédentaire de calcium surtout au niveau des racines.

Ce phénomène déjà signalé par de nombreux auteurs reste encore mal expliqué. SALSAC (1969) l'attribue en grande partie aux propriétés d'échanges ioniques des membranes racinaires.

Nous avons pu constater, par ailleurs, que les racines du Lupin cultivé sur sol calcaire, présentent très rapidement des modifications dans leur composition en acides organiques. Or, il a déjà été montré, que la production accrue d'une acidité organique, sous l'influence directe du métabolisme

provoque une absorption sélective concomitante de cations par échange ionique avec H^+. JACOBSON L. et coll.,(1954).

La régulation du métabolisme intermédiaire peut donc être aussi considérée comme un processus important dans l'adaptation des végétaux au calcaire du sol.

b) - Les analyses comparatives des teneurs en éléments minéraux des différents organes du Lupinus albus laissent supposer un certain ralentissement dans les migrations des cations et en particulier du calcium chez cette plante. Des troubles dans le transport ont été également évoqués au sujet des glucides solubles. Pour la clarté de cet exposé, nous discuterons dans un paragraphe ultérieur, de tous les résultats susceptibles d'être liés aux phénomènes de transport.

c) - Le rôle physiologique des minéraux et en particulier du calcium dépend essentiellement du taux et des formes sous lesquelles ils se trouvent dans la plante. Leur localisation à l'intérieur de la cellule elle-même est aussi d'une grande importance.

Les techniques analytiques actuelles ne peuvent pas nous donner de tels renseignements. Toutefois, l'étude comparée des teneurs globales en chacun des divers cations minéraux et des anions organiques peut donner, avec bien sûr toutes les restrictions qu'il convient d'ajouter, une idée des formes sous lesquelles les minéraux se trouvent dans la plante.

Nous essayerons de voir ainsi :

1°) - quelles sont les probabilités d'une augmentation du calcium ionique dans les divers organes de la plante chlorosée.

2°) - quels sont les effets éventuels des variations organiques et minérales constatées, sur la P.O. vacuolaire des cellules.

1°) - Au début de la végétation (stade 2 F) les parties aériennes de la jeune plantule du Lupin ont des teneurs en acides organiques nettement plus élevées que les teneurs en cations minéraux. Les composés organiques sont donc, quantitativement au moins, susceptibles de chélater une grande partie des formes ioniques minérales non intégrées dans les systèmes métaboliques.

Un sol riche en calcaire actif, affecte peu les teneurs globales en cations et anions des jeunes tissus chlorophylliens du Lupin.

Par contre, au niveau des racines la teneur globale en anions organiques excède de peu celle des cations minéraux. Cependant, dans les jeunes racines du Lupin sain, le taux d'acide citrique dépasse nettement celui du calcium. Le rapport en meq. entre les deux est égal à 3. Ici, encore, nous

Des travaux faits sur les tissus conducteurs CATESSON (1968) ont montré que les transports des substances brutes et élaborées sont également soumis à l'infrastructure des vacuoles du cambium Une P.O. élevée morcelle les réseaux vacuolaire en de très nombreuses petites vacuoles globuleuses, elle ralentit les mouvements de cyclose et le transport de diverses substances. Or nous venons de voir que la P.O. vacuolaire des limbes du Lupin chlorosé devait être certainement très augmentée.

Une activité phosphatasique acide a pu être mise en évidence dans les cellules parenchymateuses différenciées du phloème et du xylème. CATESSON (1968) . Les variations de l'équipement enzymatique de ces tissus seraient d'après l'auteur en rapport avec les variations saisonnières de la circulation de la sève. D'autres auteurs pensent que ces enzymes auraient un rôle dans les transports des glucides SAUTER J.J. (1966)1967).

Il serait très intéressant de pouvoir comparer les activités phosphatasiques acides du phloème et du xylème chez le Lupin sain et chez le Lupin chlorosé et de voir ainsi, si les troubles du transport que nous venons d'évoquer ne pourraient être attribués, entre autres, à des perturbations dans la synthèse ou l'activité de ces enzymes.

III - ACTION D'UN SOL CALCAIRE SUR LE METABOLISME INTERMEDIAIRE

L'ensemble des résultats obtenus indique que la chlorose calcaire modifie chez le Lupinus albus, les teneurs en acides organiques et leur évolution au cours de la végétation.

Trois variations importantes peuvent caractériser le Lupin chlorosé :

a) - une diminution des teneurs en acides shikimique et quinique
b) - une accumulation de l'acide malique dans les limbes
c) - une augmentation des teneurs en acide citrique surtout au niveau des racines.

L'interprétation de ces variations est délicate, car, ici encore les teneurs observées pour chaque métabolite peuvent traduire la superposition de plusieurs phénomènes :

- modification de la synthèse ou de l'activité des enzymes responsables de la formation ou de la dégradation de chaque composé
- perturbation dans le transport de ces métabolites. Ces transports peuvent s'effectuer d'un organe à un autre, mais aussi, au niveau cellulaire : (lieu de synthèse des acides $\rightleftharpoons$ lieu de réserve).

a) - *Les acides quinique et shikimique* : L'étude quantitative de ces acides et des composés aminés qui métaboliquement leurs sont reliés (tyrosine, phénylalamine, tryptophane) montre que la chlorose calcaire affecte les teneurs d'un certain nombre de substances issues normalement du sedoheptulose. Nous n'avons pu mettre en évidence cet heptulose dans le Lupinus albus, par contre, nous avons constaté dans cette plante une accumulation de mannoheptulose au niveau des limbes. Il est possible, comme l'a déjà signalé P.R.SRINIVASAN et coll., (1955), que ce dernier composé joue ici le rôle ordinairement attribué au sedoheptulose.

Dans cette hypothèse, la baisse des teneurs en acides shikimique et quinique et la présence en quantité relativement abondante de mannoheptulose suggèrent que la voie de métabolisme qui conduit aux lignines, flavones, tanins, auxines, etc... est perturbée.

Or il a été constaté par ailleurs que les différents organes du Lupinus albus renferment normalement des quantités importantes de composés auxiniques. CARR, REID et SKENE,, (1964), BUIS (1967).
Cette perturbation observée au niveau du métabolisme permettrait donc d'interprêter le ralentissement de la croissance du Lupin chlorosé.

b) - *L'acide malique* : Il est actuellement admis que l'acide malique occupe dans le métabolisme intermédiaire des plantes une position charnière entre le cycle des acides tricarboxyliques et la β carboxylation.

Au cours de la période allant de la germination à la floraison, l'évolution des teneurs en acide malique des limbes du Lupin sain ne présente pratiquement pas d'accumulation. Par contre, lorsque la plante est cultivée sur sol calcaire, la teneur en acide malique des limbes augmente.

Ce phénomène est dû en grande partie à des réactions de β carboxylation. WALLACE et coll. (1960) ont montré en effet que la fixation du CO_2 par les racines des plantes chlorosées était beaucoup plus élevée. Ils ont mis en évidence une forte activité de la phospho-énol-pyruvique carboxylase. Cette réaction de carboxylation, accompagnée d'une augmentation de la teneur en acide malique et en acide aspartique peut être influencée par de nombreux facteurs : une faible photosynthèse, MOYSE et coll., (1957) une viscosité cytoplasmique élevée, une diminution de la perméabilité des membranes QUEIROZ (1969), une absorption des cations minéraux en excès sur celle des anions HIATT et coll., (1967).

Nos résultats expérimentaux ont montré que, du stade 2 F au stade 5-6 F, l'augmentation des teneurs en acide malique, acide aspartique et asparagine des limbes chlorosés est très rapide. Une carboxylation dominante semble

caractériser cette période. Ensuite, la plante parait atteindre un certain équilibre et la teneur en acide malique augmente beaucoup plus lentement. La courbe illustrant l'évolution de cet acide en fonction du temps présente alors un nouveau palier.

Il y aurait ainsi, dans un premier temps, une mise en fonctionnement de certains mécanismes responsables de l'augmentation de l'acide malique. Puis, à partir du stade 6 F, l'acidité organique des feuilles ayant atteint un certain taux, les mécanismes qui conduisent à son accumulation sembleraient être mieux régulés. Il est possible que l'acide malique lui-même,en agissant en tant que produit final, rétroinhibe la phospho-énol-pyruvique carboxylase TING (1967). L'importante accumulation d'acide aspartique et d'asparagine observée dans les feuilles de Lupin chlorosé laisse également penser qu'une grande partie des produits de la β carboxylation du Phospho-énol-pyruvique se transforme en acide aspartique et en amide correspondant.

Enfin l'importance que prend cette voie carboxylative lorsque la plante se chlorose pourrait être liée à une grande disponibilité du substrat. L'acide phospho-énol-pyruvique provient en grande partie de la glycolyse. Or, nous avons constaté une nette accumulation d'oses au niveau des limbes chlorosés. D'autre part, l'utilisation du phospho-énol-pyruvique dans la voie de synthèse qui conduit aux acides shikimique et quinique est fortement ralentie.

c) - *L'acide citrique*

Nous retiendrons de nos analyses comparatives deux constatations intéressantes :

- la chlorose calcaire a pour conséquence d'accroître la teneur en acide citrique.Cette augmentation est d'autant plus importante que l'organe considéré est proche du milieu nutritif (racines > tiges > limbes).
- L'évolution générale de la teneur en acide citrique n'est pas modifiée dans les parties aériennes (limbes et tiges). Au cours de la végétation il y a toujours une baisse de teneur. Celle-ci reste cependant constamment plus abondante dans les tissus malades.

Par contre, au niveau des racines, l'évolution normale de l'acide citrique est totalement modifiée . Il s'accumule avec le temps.

Que la teneur en acide citrique soit plus élevée dans les limbes chlorosés peut être interprêté comme une des conséquences immédiates de l'accumulation pathologique de l'acide malique. Les réactions métaboliques qui utilisent l'acide malique comme précurseur peuvent être, par contre coup, plus ou moins activées. Mais que l'augmentation de l'acide citrique soit plus

importante dans les racines alors que justement ces organes n'accumulent pas l'acide malique laisse supposer que d'autres processus sont mis en cause.

Certains auteurs de KOCK et coll., (1958), BACON et coll. (1961) BROWN (1966) ont émis l'hypothèse que l'accumulation de l'acide citrique serait dûe à une diminution de l'activité de l'aconitase.

Cet éventuel blocage du cycle tricarboxylique au niveau du citrate devrait avoir comme conséquence :

1°) - une diminution des composés qui constituent les étapes suivantes du cycle citrique

2°) - une perturbation des voies de métabolisme qui sont étroitement liées à certaines de ces étapes :

+ l'acide α cétoglutarique conduit par l'intermédiaire de l'acide glutamique à de nombreux acides aminés.

+ l'acide succinique est le point de départ des synthèses porphyriniques.

3°) - un important déficit dans la production d'énergie sous forme d'ATP.

Au niveau des limbes du Lupin chlorosé, l'accroissement des teneurs en acide citrique est de 66% environ. Mais ces organes présentent simultanément une augmentation importante de la plupart des acides aminés provenant de l'acide α cétoglutarique et aussi une accumulation d'acide malique (de + 73%). Dans ces conditions l'accroissement de l'acide citrique ne parait pas être sensiblement supérieur à celui de ces autres métabolites. Il apparait dès lors difficile d'interprêter cette variation comme étant la conséquence d'une inhibition de l'aconitase.

Par contre, au niveau des racines nous avons pu constater une accumulation d'acide citrique beaucoup plus intense (+ 130%). Or ce phénomène s'accompagne d'une baisse des teneurs en acide malique (- 9%) et d'une diminution des composés aminés provenant de l'acide α cétoglutarique (acide glutamique - 56%) : γ amino-butyrique - 73% ; proline : -48% ; arginine : -16%

En ce qui concerne les racines du Lupinus albus, l'hypothèse d'un blocage du cycle tricarboxylique au niveau du citrate expliquerait les diverses variations constatées dans ces organes. De plus elle serait en accord avec un ralentissement des synthèses qui par l'intermédiaire de l'acide succinique conduisent aux porphyrines, précurseurs des chlorophylles.

CONCLUSIONS GENERALES

Au cours de ce travail nous nous sommes attaché à étudier un certain nombre de réactions liées au caractère "sensible" ou "indifférent" des végétaux à l'égard du calcaire présent dans le sol.

Dans une première partie, notre étude a porté sur un matériel végétal récolté directement dans la nature ce qui présente l'avantage de mettre plus fidèlement en évidence les différences de comportement écologique qui distinguent les plantes "indifférentes" des plantes "calcifuges".

Sur des échantillons fournis par la végétation spontanée et par des cultures faites en milieu naturel, nous avons limité nos recherches à l'étude des éléments minéraux et des acides organiques.

Lorsque les analyses comparatives sont effectuées sur des végétaux récoltés sur un même sol non chlorosant, nous constatons que :

- *les plantes indifférentes* sont souvent plus riches en éléments minéraux et en particulier en calcium, que les espèces sensibles. Leur teneur élevée en cations par rapport à leur masse de substance sèche, témoigne de l'importance de la capacité d'échange cationique de leurs racines.

L'abondance du calcium dans l'ensemble de ces plantes pourrait s'expliquer en partie par la théorie de MATTSON selon laquelle les plantes à forte capacité d'échange absorbent préférentiellement les cations polyvalents.

Toutefois les espèces sensibles ou résistantes ne se distinguent pas de façon aussi nette, par leur teneur en magnésium. Cette constatation souligne les différences qui existent dans les processus d'absorption et de transport entre ces deux cations divalents.

- *les plantes calcifuges* sont en général des plantes pauvres en éléments minéraux.

Les droites représentatives des variations des teneurs en calcium et en potassium en fonction de la somme : $S = K + Ca + Mg$, présentent une pente plus faible chez les espèces sensibles. Cette observation témoignerait d'une

capacité moindre dans les phénomènes d'échanges et d'une plus faible sélectivité de ces végétaux à l'égard des cations.

Les conséquences d'un apport accru de calcaire sur la composition minérale et organique des végétaux, sont dissemblables suivant qu'il s'agit de plantes "indifférentes" ou de plantes "sensibles".

- La richesse d'un sol en calcaire actif influe peu sur la teneur globale en minéraux des *plantes indifférentes*. Cependant elle a pour effet de diminuer légèrement le taux et la proportion du calcium dans les limbes. Ces organes présentent par contre une teneur accrue en Magnésium, en Fer et en Cuivre.

Parallèlement nous avons pu constater chez ces plantes, une augmentation de l'acidité organique totale dûe essentiellement aux acides oxalique, tartrique, shikimique, quinique et malique.

- Par contre la composition minérale des *espèces calcifuges* subit des modifications beaucoup plus importantes par le fait d'une pénétration fortement accrue de cations. L'augmentation du taux de Calcium se produit dans toutes les parties de la plante, mais cet élément s'accumule davantage dans les tiges que dans les limbes. Ces espèces se laissent moins facilement envahir par le Magnésium. Enfin l'absorption du Cuivre semble perturbée.

Ces variations de la composition minérale s'accompagnent d'une importante augmentation de l'acidité organique totale. Il est remarquable de noter que cette acidification des plantes calcifuges est dûe essentiellement à des acides du cycle tricarboxylique : malique et citrique.

Ainsi, face à un apport accru de calcaire dans le sol, la plupart des végétaux augmentent leur acidité organique totale, mais les processus métaboliques qui sont à l'origine de ce phénomène, diffèrent selon le caractère "sensible" ou "résistant" des espèces.

Etant donné l'importance que l'on attribue de plus en plus aux acides organiques dans la nutrition minérale des végétaux, on est tenté d'établir une relation entre la différence des synthèses en acides organiques des plantes sensibles ou résistantes et leur dissemblance en ce qui concerne leur absorption minérale en milieu calcaire.

Telles sont les principales constatations touchant les conséquences d'un sol riche en calcaire sur des végétaux récoltés directement dans la nature, au moment de leur floraison.

Il est bien certain qu'un tel échantillonnage ne permet pas d'aboutir à des explications physiologiques aussi rigoureuses qu'un matériel cultivé au laboratoire dans des conditions précises, sur milieu connu.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons entrepris une étude plus expérimentale, réalisée à l'aide de cultures en pots, d'une plante calcifuge : Lupinus albus : ceci nous a permis d'analyser en détail l'instauration de l'état pathologique que représente la chlorose calcaire et de mettre en évidence certaines modifications dans la répartition des composés étudiés et dans le métabolisme intermédiaire.

A - Des analyses successives, à plusieurs stades végétatifs ont permis de suivre l'évolution de la croissance et de la composition en éléments minéraux et en acides organiques.

1°) - L'ordre chronologique suivant lequel apparaissent les diverses perturbations caractéristiques de la chlorose calcaire peut s'établir ainsi :

- la pénétration et par suite la teneur en calcium et en cuivre des racines sont très précocément perturbées. Dès le stade 2 feuilles le taux de calcium des jeunes racines du Lupin chlorosé augmente de 275% par rapport au témoin tandis que la teneur en cuivre diminue de 43%. Ces modifications s'accompagnent d'une augmentation du taux d'acide malique de l'ordre de 33%.

- quelques jours plus tard, une importante acidification organique dûe en majeure partie à l'acide malique se produit dans les parties aériennes du Lupin. Le jaunissement internervaire des limbes correspond à cette période.

L'acidité organique totale des racines ne présente que de faibles variations; par contre la teneur en chacun des acides qui la composent est profondément modifiée. L'acide citrique s'accumule dans les racines malades.

- ce n'est qu'après ces premières perturbations que le ralentissement de la croissance et l'invasion massive de la plante par les minéraux peuvent être observées.

Il semble donc, que la dépigmentation du Lupin chlorosé, les troubles de sa croissance, l'importante augmentation des teneurs en minéraux, peuvent être considérés comme des conséquences plus ou moins indirectes et à échéance différée, d'une perturbation précoce de l'absorption et du transport de certains éléments minéraux tels que le calcium et le cuivre.

2°) - Au fur et à mesure que l'état pathologique s'instaure dans la plante, l'analyse des rapports anions organiques/cations minéraux, suggère que le taux de calcium ionique s'accroît. Ce phénomène serait particulièrement net au niveau des racines malades.

3°) - Enfin la stabilité relative des teneurs en eau et les variations quantitatives des divers constituants étudiés, conduisent à penser que la pression osmotique vacuolaire et par voie de conséquence celle de la cellule entière, augmenterait avec l'instauration de l'état pathologique.

B - Des comparaisons faites à un même stade végétatif entre les diverses parties du Lupin permettent plusieurs remarques :

- la répartition du calcium dans l'ensemble de la plante chlorosée se trouve modifiée en faveur des tiges et des racines
- une accumulation relative des glucides solubles et en particulier de leurs formes de transport se produit au niveau des limbes malades
- une baisse des teneurs en acide shikimique et quinique des feuilles. des feuilles.

Ces constatations, ajoutées aux variations de la pression osmotique déjà évoquées, contribuent à faire penser que la chlorose calcaire perturbe les transports des substances brutes et élaborées chez les plantes calcifuges. Cette ligne d'investigation paraît devoir être fructueuse dans l'étude de cette maladie.

C - Enfin ce travail met en évidence certaines modifications du métabolisme intermédiaire :

1°) - La voie de synthèse qui, à partir des heptuloses, conduit aux composés aromatiques et en particulier aux acides shikimique et quinique est perturbée comme en témoigne la diminution de ces deux composés et la présence en quantité relativement abondante de mannoheptulose. Le ralentissement de la croissance du Lupin chlorosé est probablement en relation avec cette modification.

2°) - L'accroissement des processus de carboxylation serait en partie responsable de l'acidification des parties aériennes des plantes chlorosées. L'abondance des acides malique, aspartique et de l'asparagine s'accorde avec l'hypothèse d'une fixation accrue du CO_2 par l'intermédiaire de l'acide phospho-énol-pyruvique.

3°) - L'accumulation anormale de l'acide citrique au niveau des racines du Lupin chlorosé s'accompagne d'une diminution des composés aminés libres provenant de l'acide α cétoglutarique et d'une légère baisse de l'acide malique.

L'hypothèse d'un blocage du cycle tricarboxylique après le citrate expliquerait les variations que nous avons constatées dans ces organes.

Elle expliquerait également le ralentissement des synthèses qui par l'intermédiaire de l'acide succinique conduisent aux chlorophylles.

Il serait intéressant de pouvoir vérifier si ce blocage est vraiment dû à des modifications de la synthèse ou de l'activité de l'aconitase elle-même ou bien s'il résulte d'une modification du substrat de cet enzyme : substrat rendu inadéquat par chélation en présence d'ions Ca^{++} en excès.

x

x x

Cette étude a permis de mettre en évidence un certain nombre de réactions différentielles entre les plantes calcifuges, calcicoles et indifférentes.

La dissemblance concernant l'absorption, la répartition des cations et le métabolisme intermédiaire de ces plantes est profonde. Les plantes calcifuges s'adaptent mal à un excès de calcium dans leur milieu nutritif. Le fonctionnement de leur cycle citrique parait perturbé.

Beaucoup de précisions manquent encore sur le transport des métabolites de leur lieu de synthèse à leur lieu d'utilisation ou sur la signification exacte du métabolisme de l'heptulose.

Néanmoins le problème est posé et les résultats que nous avons obtenus montrent où doivent être cherchés les fondements de l'écophysiologie.

BIBLIOGRAPHIE

BACON J.S.D., de KOCK P.C., et PALMER M.J., 1961 - Aconitase levels in the leaves of iron deficient mustard plants. Biochem. J., 80, 64-70

BAEYENS J., 1966 - Handbuch der Pflanzenernährung und Düngung - Springer - Verlag - Wien. New York II, 1, 474-551

BEAR F.E., 1950 - Cation and anion relation in plants and their bearing on crop quality. Agron J., 42, 176-178

BELL W.D., BOGORAD L. et Mc ILRATH W.J., 1958 - Response of the yellow - stripe maize mutant (ys 1) to ferrous and ferric iron. Botan. Gaz., 120, 36-39

BERTRAND D. et de WOLF A., 1966 - Influence des oligo-éléments fer et manganèse dans le métabolisme de l'acide citrique et la synthèse de l'aconitase. C.R. Acad. Sci., 263, 1081-1083

BLANC D., 1962 - Observations sur l'équilibre cationique du végétal. Agrochimica, 7, 38-45

BLANC-AICARD D. et DROUINEAU G., 1955 - Capacité de saturation en calcium des porte-greffes de vigne et résistance à la chlorose calcaire. C.R. Acad. Sci., 241, 1614-1616

BOUSQUET U., 1971 - Absorption et migration du calcium chez une espèce calcifuge et une espèce calcicole. C.R. Acad. Sci., 272, 1768-1771

BOVE J. et RAVEUX R., 1957 - La séparation et la détermination des acides carboxyliques de C_1 à C_6 par chromatographie de partage sur colonne de silice. Bull. Soc. Chim. de France, 49, 376-381

BROWN J.C., 1953 - The effect of the dominance of a metabolic system requiring iron or copper on the development of lime induced chlorosis. Plant. Physiol., 28, 495-502

BROWN J.C., 1963 - Iron chlorosis in soybeans as related to genotype of rootstock. Soil Sci., 96, 387-394

BROWN J.C., 1965 - Calcium movement in barley and wheat as affected by copper and phosphorus. Agron. J., 57, 617-621

BROWN J.C., 1966 - Fe and Ca uptake as related to root-sap and stem-exudate citrate in soybeans. Physiol. Plantarum, 19, 968-976

BROWN J.C. et FOY C.D., 1964 - Effect of Cu on the distribution of P, Ca and Fe in barley plants. Soil Sci., 98, 362-370

BROWN J.C. et HENDRICKS S.B., 1952 - Enzymatic activities as indications of copper and iron deficiencies in plants. Plant Physiol., 27, 651-660

BROWN J.C., HOLMES R.S. et TIFFIN L.O., 1958 - Iron chlorosis in soybeans as related to the genotype of rootstock. Soil Sci., 86, 75-82

BROWN J.C., HOLMES R.S. et TIFFIN L.O., 1961 - Iron chlorosis in soybeans as related to the genotype of rootstock. III Chlorosis susceptibility and reductive capacity at the root. Soil Sci., 91, 127-132

BROWN J.C. et JONES W.E., 1962 - Absorption of Fe, Mn, Zn, Ca, Rb and Phosphate ions by soybeans roots that differ in their reductive capacity. Soil Sci., 94, 173-179

BROWN J.C. et TIFFIN L.O., 1960 - Iron chlorosis in soybeans as related to the genotype of rootstock. II - A relation between susceptibility to chlorosis and capacity to absorb iron from iron chelate. Soil Sci., 89, 8-15

BROWN J.C., TIFFIN L.O. et HOLMES R.S., 1958 - Carbohydrate and organic acid metabolism with carbon-14 distribution affected by copper in Thatcher wheat. Plant Physiol., 33, 38-42

BROYER T.C. et HOAGLAND D.R., 1940 - Methods of sap expression from plant tissues with special reference to studies on salt accumulation by excised barley roots. Am. J. Botany., 27, 501-511

BROYER T.C. et HOAGLAND D.R.,1943 - Metabolic activities of roots and their bearing on the relation of upward movement of salts and water in plants. Am. J. Botany., 30 , 261-273

BUCH M.L., MONTGOMERY R. et PORTER W.L., 1952 - Identification of organic acids on paper chromatogram. Anal. Chem., 24, 490-491

BUIS - 1967 - Recherches factorielles sur la régulation de la croissance de l'hypocotyle de Lupin (Lupinus albus L.) Thèse ès-Sciences - Toulouse, 7-4-1967.

BURSTRÖM H.G. 1961 - Mineral metabolism. Fortschr. Bot., Dtsch., 23, 206-222

BURSTRÖM H.G., 1968 - Calcium and plant growth. Biol. Rev., 43, 287-316

CARLES J., 1960 - Le métabolisme des acides organiques dans l'ensemble de la plante. Handbuch der Pflanzenphysiologie, Springer-Verlag. Ed.. Berlin, XII, n° 2, 663-700

CARLES J., et ALQUIER-BOUFFARD A., 1963 - Le dosage de l'acidité organique des tissus végétaux. Bull. Soc. Chim. Biol., 45, 157-163

CARLES J. et ALQUIER-BOUFFARD A., 1965 - De quelques perfectionnements pour la chromatographie sur colonne des acides organiques. Bull. Soc. Chimie biol., XLVII, 1519-1521

CARLES J.,LATTES A. et LATTES F., 1961 - L'estérification des acides organiques par les solvants alcooliques. Journal of Chromatography, 6, 486-497

CARLES J. et LATTES F., 1959 - L'acide malonique et l'acide quinique au cours de la germination du grain de Blé et du grain de Lupin. C.R. Acad. Sci., 249, 447-449

CARLES J., LATTES F. et ALQUIER-BOUFFARD A., 1963 - Des effets de la chlorose calcaire sur la répartition des acides organiques et des éléments minéraux et de l'importance du pétiole dans cette répartition. Bull. Soc. Franc. de Physiol. Végt., 9, 165-174

CARLES J., LATTES F. et MAGNY J., 1961 - Contribution à l'étude de l'influence du sol calcaire sur la composition minérale des plantes. C.R. Acad. Sci., 253,3035-3037

CARLES J., SCHNEIDER A. et LACOSTE A.M., 1958 - Contribution à l'étude chromatographique des principaux acides organiques. Bull. Soc. Chim. Biol., 40, 221-232

CARR-REID et SKENE - 1964 - The supply of Gibberellins from the root to the shoot. Planta, 63, 382-392

CATESSON A.M. et CZANINSKI Y., 1968 - Localisation ultrastructurale de la phosphatase acide et cycle saisonnier dans les tissus conducteurs de quelques arbres. Bull. Soc. Franc. Physiol. Végét., 14, 165-173

CHABEREK S. et MARTELL A.E., 1959 - Organic sequestering agents. J. WILEY and Sons ed., New York

CHKUASELI T. YA. et BERIDZE A.G., 1966 - Secretion of different substances from the root system of grapevines. Soobshch. Akad. Nauk. Gruz., 42, (3) 707-711

CHOUARD P., 1952 - Cultures sans sol. Paris : Maison Rustique

CLYMO R.S., 1962 - An experimental approach to part of the calcicole problem. J. Ecol., 50, 707-731

CROOKE W.M. et KNIGHT A.H., 1962 - An evaluation of published data on the mineral composition of plants in the light of the cation exchange capacities of their roots. Soil Sci., 93, 365-373

de KOCK P.C., 1961 - Mineral equilibrum of plants. Vitalstoffe Zivilisationskrankh. 6, n° 21, 32-33

de KOCK P.C. et MORRISON R.I., 1958 - The metabolism of chlorotic tissues Biochem. J., 70, 266-277

DEMETRIADE S.D., 1956 - Chromatographic detection of free amino acids in normal and Fe - deficient plants of Hibiscus esculentus. Nature, 177, 95

DEVILLERS P., 1969 - Sur le pouvoir chélateur des exsorbats de tissus végétaux cultivés in vitro. C.R. Acad. Sci., 268, 76-79

DIJKSHOORN W., 1962 - Metabolic regulation of the alkaline effect of nitrate utilization in plants. Nature, 194, 165-167

DOMAN N.G. et SHKOL'NIK R. YA., 1959 - The conversion of sedoheptulose ^{14} in leaves of Phaseolus vulgaris and Sedum spectabile. Biokhimiya, 24, 187-191

DROUINEAU G., 1963 - La chlorose calcaire. Bull. Soc. Franc. de Physiol. Végt., 9, 151-164

DUNNE T.C., 1932 - Plant buffer systems in relation to absorption of leaves by plants. Hilgardia, 7, 207-234

DUVIGNEAUD P. et DENAEYER de SMET S., 1962 - Distribution de certains éléments minéraux (K, Ca et N) dans les tapis végétaux naturels. Bull. Soc. Franc. de Physiol. Végt., 8, 96-104

EPSTEIN E., 1961 - The essentiel role of calcium in selective cation transport by plant cells. Plant Physiol., 36, 437-444

EPSTEIN E., 1966 - Dual pattern of ion absorption by plant cells and by plants. Nature, 212, 1324-1327

EPSTEIN E. et LEGETT J.E., 1954 - The absorption of alkaline earth cations by Barley roots : kinetics and mecanism. Amer. J. Bot., 41, 785-791

EPSTEIN E., RAINS D.W., SCHMID W.E., 1962 - Course of cation absorption by plant tissue. Science, 136, 1051-1052

GALET P., 1947 - Résistance des porte-greffes à la chlorose. Progrès Agric. Vitic., 36, 128-133

GLAUSER R. et JENNY H., 1960 - Two phase studies on availability of iron in calcareous soils. I - Experiments with alfalfa plants. Agrochimica, 4, 233-278

GOLDSCHMID O., et QUIMBY C.R., 1964 - Lignin precursors : the role of quinic acid. Tappi, 47, 528-33

GRIGORA M. Yu., 1965 - Dynamic of total and protein nitrogen in leaves of apple and pear trees diseased with calcium chlorosis. Akad. Nauk. SSR, 79-86

GRUNES D.L. et JENNY H., 1960 - Two phase studies on availability of iron in calcareous soils. II - Decomposition of colloidal iron hydroxide by ion exchangers. Agrochimica, 4, 279-287

HELLER R., 1969 - Biologie Végétale. II - Nutrition et Métabolisme - Masson - Paris

HERNANDO V. et CONDE S., 1958 - Influencia de la relacion Ca/K del suelo en el desarollo de la clorosis ferrica. Pot. Symp. 127-135

HEWITT E.J., 1958 - Mineral nutrition in legumes. E.G. HALLS - worth editor (Academic Press Inc.).

HEWITT E.J., 1963 - The essentiel nutrient elements : requirements and interactions in plants. Plant physiology F.C. Steward, Academic Press, New York et Londres III, 198-212

HIATT A.J., 1967 - Relationship of cell sap pH to organic acid change during ion uptake. Plant Physiol., 42, 294-298

HIATT A.J., 1967 - Reactions in vitro of enzymes involved in CO_2 fixation accompanying salt uptake by barley roots. Z. Pflanzenphysiologie, 56, 233-245

HIATT A.J. et HENDRICKS S.B., 1967 - The role of CO_2 fixation in accumulation of ions by barley roots. Z. Pflanzenphysiologie, 56, 220-232

HIATT A.J. et LOWE H., 1967 - Loss of organic acids, amino acids, K and Cl from Berley roots treated anaerobically and with metabolic inhibitors. Plant. Physiol., 42, 1731-1736

HOMES M.V., ANSIAUX J.R. et VAN SCHOOR G., 1953 - Aquiculture 2° edition

HULME A.C. et WOOFTORTON L.S.C., 1958 - Determination and isolation of the non volatile acids of pome fruits and a study of acid changes in apples during storage. J.Sci. Food. Agr., 9 150-158

ILJIN W.S., 1942 - Die Kalkchlorose der Pflanzen und ihre - Biochemie Jb. Wiss Bot., 90, 464-529

ILJIN W.S. , 1943 - Biochemische Vorange wâhrend der Kalk Chlorose der weissen Lupine. Ber. Deut. Botan. Ger., 61, 138-148

ILJIN W.S., 1951 - Metabolism of the grapevigne during lime chlorosis. Garden Bauwios, 17, 338-381

ILJIN W.S., 1951 - Metabolism of plants affected with lime induced chlorosis (calciose). II - Organic acids and carbohydrates. Plant and Soil, 3, 339-351

JACKSON W.A., 1957 - Carbon dioxide fixation by plant roots and its influence an cation absorption. Dissert. Abstr., 17, 1650

JACKSON W.A. et COLEMAN N.T., 1959 - Ion absorption by bean roots and organic acid changes brought about through CO_2 fixation - Soil Sci., 87, 311-319

JACOBSON L., 1955 - Carbon dioxide fixation and ion absorption by barley roots. Plant Physiol., 30, 264-269

JACOBSON L., HANNAPEL R.J., MOORE D.P. et SCHAEDLE M., 1961 - Influence of calcium on selectivity of ion absorption process. Plant Physiol., 36, 58-61

JACOBSON L., et ORDIN L., 1954 - Organic acid metabolism and ion absorption in roots. Plant Physiol., 29, 70-75

KARTASHOVA E.R., 1968 - The effect of EDTA on the uptake and distribution of iron in plants. Sel'skokhoz. Biol., 3, 234-238

KRAJANSKIJ O.B., 1961 - En russe. Dosage photométrique des pentoses dans les hydrolysats. Izvest. vysshuchebn.Zaved. Pishch. Tekhnol., 6 150-153

LATTES F., 1960 - Etude des troubles dans l'équilibre minéral du Lupinus albus en présence de calcium. C.R. Acad. Sci., 250, 1900-1905

LATTES F., 1962 - Influence du calcaire sur le métabolisme des acides organiques chez les plantes calcicoles, calcifuges et indifférentes. C.R. Acad. Sci., 254, 922-924

LATTES F. et ALQUIER-BOUFFARD A., 1966 - Effet de la chlorose calcaire sur les variations quantitatives du saccharose et du manno-heptulose. C.R. Acad. Sc., 262, 2044-2047.

LAULHERE J.P. et ALQUIER-BOUFFARD A., 1969 - La disponibilité du fer et la chlorose. Physiol. Vég., 7, 277-296

LEDERERE., 1959 - Chromatographie en chimie organique et biologique - Masson - Paris

LEE J.A. et WOOLHOUSE H.W. 1966 - Chlorophyll content of Deschampsia flexuosa seedlings grown on a calcareous and a non calcareous soil. Nature, 209, 1044-1045

LEGGETT J.E., 1968 - Salt Absorption by plants. Annual Rev. Plant. Physiol., 19, 33-45

LINDNER R.C. et HARLEY C.P., 1944 - Nutrient inter-relations in lime induced chlorosis. Plant Physiol., 420-439

LUTTGE U., et WEIGL I., 1962 - Micro autoradiographische untersuchungen der Aufnahme un des transport von $^{34}SO_4$ un $^{45}Ca^{++}$ in Keimwurzeln von Zea mays und Pisum sativum. Planta, 58, 113-126

MARSH H.V., EVANS H.J. et MATRONE G., 1963 - Investigations of the role of iron in chlorophyll metabolism . Plant Physiol., 38, 632-642

MATTSON S., 1948 - Donnan equilibria in plant nutrition. Lantbrhögsk. Ann., 15, 308-316

MAUNE L., 1946 - Rapports physiologiques N, P_2O_5, K_2O et CaO, MgO remarquablement distincts entre graminées et légumineuses de prairies dans un même milieu. C.R. Acad. Sci., 222, 105-107

MAUNE L., DULAC J. et BOUAT A., 1934 - Ann. Ec. Nat. Agric. Montpellier, 23-1 ; 40-42

Mc COMB E.A. et RENDIG V.V., 1961 - Isolation and identification of L. galacto - Heptulose from Plants Fed L. Sorbose. Arch. Biochem. Biophys. 95, 316-319

Mc GEORGE W.T., 1949 - Lime induced chlorosis : relation between active iron and citric and oxalic acids. Soil Sci., 68, 380-390

Mc KINNEY., 1941 - In BOUTARD J., Physiol. Vég., (1966) 4, 105-123

MENGEL K., 1965 - Cation-anion balance in roots, stems and leaves of Helianthus annus in relation to chloride and sulfate nutrition. Planta, 65, 358-368

MILLER G.W., 1960 - Carbon dioxide bicarbonate absorption accumulation effects on various plant metabolic reactions, and possible relations to lime induced chlorosis. Soil Sci., 89, 241-245

MIRONENKO A.V. et SPIRIDONOVA G.I., 1959 - The composition and quantitative content of free amino acids in lupines. Byull. Inst. Biol., Akad. Nauk. Belorus. S.S.R., n° 5, 181-185

MOORE D.P., JACOBSON L. et OVERSTREET R., 1961 - Uptake of Ca by excised Barley roots. Plant Physiol., 36, 53-57

MOORE D.P., OVERSTREET R. et JACOBSON L., 1961 - Uptake of magnesium and its interaction with calcium in excised. Barley roots. Plant Physiol., 36, 290-295

MOYSE M. et JOLCHINE G., 1957 - L'action de la lumière sur la β-carboxylation et les oxydations dans les feuilles de Bryophyllum. Bull. Soc. Chim. biol., 39, 725-745

MUIR J.W., MORRISON R.I. et BROWN C.J., 1964 - Mobilization of iron by aqueous extracts of plants.J. Soil. Sci., 15, 220-225 ; J. Soil Sci., 15, 226-237

NOGGLE J.C., 1966 - Ionic balance and growth of sixteen plant species. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 30, 763-766.

OLSEN C., 1939 - Absorption of calcium and formation of oxalic acid in higher green plants. Compt. Rend. Trav. Lab. Carlsberg. Sér. Chem. 23, 101-124.

OSERKOWSKY J., 1933 - Quantitative relation between chlorophyll and iron in green and chlorotic pear leaves. Plant Physiol., 8, 449-468

OSTROVSKAYA L.K., 1965 - Physiological origins of calciferous chlorosis and principal methods of its cure. Akad. Nauk. Ukr. S.S.R., 5-24

OSTROVSKAYA L.K. et ZAIRSEVA N.A., 1967 - Chloroplast photochemical activity in plants under conditions of iron deficiency. Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R., 176, n° 5, 1178-1180

PALMER M.J., 1963 - Relationships between iron and activity of plant aconitase. Biochem. J., 89, 98-104

PALMER M.J.,de KOCK P.C. et BACON J.S.D., 1963 - Changes in the concentrations of malic acid, citric acid, calcium and potassium in the leaves during the growth of normal and iron deficient Mustard plants (Sinapis alba). Biochem. J., 86, 484-494

PASSAMA L., 1970 - Composition minérale de diverses espèces calcicoles et calcifuges de la région méditerranéenne française. Oecol. Plant., 5, 225-245

PERUR N.G., SMITH R.L., et WIEBE H.A., 1961 - Effect of iron chlorosis on protein fractions of corn leaf tissue. Plant Physiol. 36, 736-739

PORRA R.S. et LASCELLES J., 1968 - Studies on ferrochelatase. The enzymic formation of hoem in proplastids, chloroplasts and plant mitochondria. Biochem. J., 108, 343-348

PUCHER J.W., 1941 - In CARLES J. et ALQUIER-BOUFFARD A., 1963

QUEIROZ O., 1969 - Sur le métabolisme acide des crassulacées. IV - Réflexions sur les phénomènes oscillatoires au niveau enzymatique et sur la compartimentation métabolique, sous l'action du photopériodisme. Physiol. Vég., 8 75-110

RAINS D.W., SCHMID W. et EPSTEIN E., 1964 - Absorption of cations by roots. Effect of H-ions and essential role of calcium. Plant Physiol., 39, 274-278

RANSON S.L., 1965 - The plant acids. Plant Biochemistry. BONNER J. et VARNER J.E., Academic Press ; New York et Londres, 493-523

RASMUSSEN G.K., HOWARD, TENENHOUSE et ALAN, 1968 - Cyclic adenosine monophosphate Ca^{++} and membranes. Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., 59, 1364-1370

RASMUSSEN G.K. et SMITH P.F., 1961 - Effect of calcium, potassium, and magnesium on oxalic, malic and citric content of Valencia orange leaf tissue. Plant Physiol., 36, 99-101

RATLEDGE C., 1967 - The production of an N-acylanthranilic acid from shikimic acid and the effect of iron deficiency on the biosynthesis of other aromatic compounds by Aerobater aerogenes. Biochim. Biophys. Acta., 141, 55-63

RECKENDORFER P., 1961 -Calcium chlorosis and relation to iron-Pflanzenschutz Ber., 26, 65-81

RHOADES W.A. et WALLACE A., 1960 - Possible involvement of dark fixation of CO_2 in lime-induced chlorosis. Soil Sci., 89, 248-256

RHOADES W.A., WALLACE A. et ROMMEY E.M., 1959 - Lime induced chlorosis studied. Calif. Agric., 13, 3

RINGOET A. et RECHENMAN R.V., 1968 - Calcium localization within live oat leaves using a semiconductor detector assembly. Planta, 81 280-286

RORISON I.H., 1960 - Some experimental aspects of the calcicole-calcifuge problem'. I. The effects of competition and mineral nutrition upon seedling grouwth in the field. J. Ecol. G.B., 48, 585-599
II - Effects of mineral nutrition on seedling growth in solution culture. J. Ecol. G.B., 48, 679-688

RUBIN B.A., CHERNAVINA I.A., GAVRILENKO V.F., 1962 - Studies on the relationships between the formation of chlorophylls and Fe-Porphyrins in higher plants. Biologia plantarum V.

SALSAC L., 1969 - Caractères particuliers de l'absorption du calcium. Bull. Soc. Franc. de Physiol. Végt., 15, 213-236

SALSAC L., 1970 - Absorption du calcium par les racines de Févèrole (calcicole) et de Lupin jaune (calcifuge). Thèse Sc. Nat., Paris.

SAUTER J.J., (1966) - Untersuchungen zur - Physiologie der Papperholzstrahlen Zeitschrift für Pflanzenphysiologie, 55, 349-362

SCHAEDLE M. et JACOBSON L., 1966 - Ion absorption and retention by Chlorella pyrenoidosa. II Permeability of the cell to Na and Rb. Plant Physiol., 41, 248-54

SCHAEDLE M. et JACOBSON L., 1967 - Ion absorption and retention by Chlorella pyrenoidosa. III. Plant Physiol., 42, 953-958

SCHNEIDER A., 1964 - Déterminisme du cycle de Taphrina deformans en rapport avec l'évolution des acides organiques chez le pêcher. Thèse Sc. Nat. Toulouse.

SCHOFFENIELS S., 1964 - Effect of inorganic ions on the activity of L. Glutamic acid dehydrogenase. Life Sci., 3, 845-850

SHETTY A.S. et MILLER G.W., 1966 - Influence of iron chlorosis on pigment and protein metabolism in leaves of Nicotiana tabacum. Plant Physiol., 41, 415-421

SHPOTA L.A., 1963 - Changes in carbohydrate and nitrogen metabolism in plants with iron chlorosis. Uch. Zap. Biol. Fak. Kirg. Univ., 9 109-115

SLANKIS V., RUNECKLES V.C. et KROTKOV G., 1964 - Metabolites liberated by roots of white pine seedlings. Physiol. Plantarum, 17, 301-313

SOLOV'ENA E.A. et MAKAROVA N.A., 1960 - Effect of microelements on greening and stability of the chlorophyll-protein-lipid complex. Fiziol. Rasten., SSSR, 7, 419-422

SPITHOST L.S., 1969 - Measurement of trace elemnts in peat soils for the growing of tomato plants. Tuinbouw Meded., 32, 499-506

SRINIVASAN P.R., 1955, J. Amer. Chem. Soc., 77, 4943-4944

SU L.Y. et MILLER G.W., 1961 - Chlorosis in higher plants as related to organic acid content. Plant Physiol., 36, 415-420

TING I.P., 1967 - Inhibition of maize root PEP carboxylase by L. malate. Plant. Physiol., 42, S-3

TORII K. et LATIES G.G., 1966 - Dual mechanisms of ion uptake in relation to vacuolation in corn roots. Plant Physiol., 41, 863-870

TROCME S., 1960 - La chlorose en terrain calcaire. Techniques agricoles. 1, 1280

ULRICH A., 1941 - Metabolism of non volatile organic acids in excised barley roots as related to cation-anion balance

during salt accumulation. Am. J. Botany, 28, 526-537

VENEMA K.C.W., 1952 - Quelques considérations nouvelles sur la fertilisation. E : sur la constance de la somme des cations. Rev. Potasse, 1, 1-5

WACQUANT J.P., 1969 - Adsorption, absorption cationique préférentielle et écologie végétale. Bull. Soc. Franc. de Physiol. Végt., 15, 237-251

WALLACE A. et LUNT C.R., 1960 - Iron chlorosis in horticultural plants, a review. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 75, 819-841

WARTERESIEWICZ M., 1961 - The effect of pH and calcium in the substrate on different species of Lupine. Ann. Univ. Mariae Curie, Sklodowska. Sect. E., 16, 153-181

WENT, 1944 - In HELLER, R., 1969 - Biologie Végétale. II Nutrition et Métabolisme

WIT C.R., DIJKSHOORN W. et NOGGLE J.C., 1963 - Ionic balance and growth of plants. Verslag. Landbouwk Onderzoed, 68, 68-74

ZAITSEVA N.A. et OSTROWSKAYA L.K., 1968 - Photosynthetic phosphorylation in chloroplasts of normal and chlorotic plants. Fiziol. Rast., 15 464-468

ZECH W., 1970 - Study of lime-induced chlorosis in Pinus silvestris by analysis of needles. Z. Pflanzenernaehr Bodenk., 125, 1-16

TABLE DES MATIERES

PLAN 1
INTRODUCTION 3
DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES 4
TRAVAUX PERSONNELS 11

PREMIERE PARTIE

LES EFFETS DU CALCAIRE SUR LES VEGETAUX 11

CHAPITRE I - MATERIEL ET METHODES 12

A - Matériel 12

1 - Milieux de culture 12
a) - les sites naturels 12
b) - les champs expérimentaux 13
c) - les cultures en pots 13

2 - Matériel végétal 13
a) - les espèces résistantes au calcaire 13
b) - les espèces sensibles au calcaire 15

B - Techniques analytiques

1 - Analyses des minéraux 16
2 - Analyses des composés organiques 16
a) - l'acidité organique totale 16
b) - les principaux acides 16
c) - l'acide oxalique 17

C - Expression des résultats 17

CHAPITRE II - LES EFFETS DU CALCAIRE SUR LES COMPOSANTS MINERAUX DE LA PLANTE

A - Sol calcaire et sol non calcaire 20

B - Les principaux cations : K, Ca et Mg 23

1 - La teneur globale K+Ca+Mg 23
2 - Les divers cations 29
a) - le calcium 29
b) - le potassium 32
c) - le magnésium 33

C - Les oligo-éléments 33

1 - Le fer 35
2 - Le manganèse 35
3 - Le cuivre 37

Discussion - Conclusion 37

CHAPITRE III - LES EFFETS DU CALCAIRE SUR L'ACIDITE ORGANIQUE

A - L'acidité organique totale 43

B - Les divers acides organiques 44

1 - Les acides citrique, malique et malonique 45
2 - Les acides shikimique et quinique 48
3 - Les acides tartrique et oxalique 49

Discussion - Conclusions 50

CONCLUSIONS DE LA PREMIERE PARTIE. 52

DEUXIEME PARTIE

LES EFFETS DU CO_3Ca SUR LA PHYSIOLOGIE D'UNE PLANTE CALCIFUGE : LUPINUS ALBUS

INTRODUCTION 55

CHAPITRE I - MATERIEL ET METHODES

A - Matériel 56

1 - Les milieux de culture
a) - en milieux naturels 57
b) - en milieux artificiels 57
2 - Le matériel végétal 57

B - Techniques analytiques 57

1 - Etude qualitative 57
2 - Etude quantitative 58
a) - mesure de la croissance 58
b) - dosage des éléments minéraux 58
c) - dosage des acides organiques 58
d) - dosage des glucides solubles 58
e) - dosage des acides aminés 59
f) - dosage des pigments 59

CHAPITRE II - LES EFFETS D'UNE NUTRITION RICHE EN CO_3Ca SUR LE DEVELOPPEMENT DU LUPINUS ALBUS

A - Développement normal du Lupinus albus 60

B - Influence du CO_3Ca sur l'état hydrique du Lupin 61

C - Action du CO_3Ca sur le développement du Lupin 63

Discussion - Conclusion 63

CHAPITRE III - LES EFFETS D'UN SOL CALCAIRE SUR L'EVOLUTION DE LA COMPOSITION MINERALE DES DIFFERENTES PARTIES DU LUPINUS ALBUS

A - La teneur globale en K+Ca+Mg 67

B - Le calcium 67

c - Le cuivre 69

Discussion - Conclusion 70

CHAPITRE IV - ACTION D'UN SOL CALCAIRE SUR LES CHLOROPHYLLES ET SUR LES GLUCIDES SOLUBLES DU LUPINUS ALBUS 72

A - Les teneurs en chlorophylles 72

B - Les glucides solubles 73

1 - Les teneurs globales en glucides solubles 73

2 - Les principaux groupes de glucides solubles 76

a) - Les glucides non hydrolysables : les oses 76
1°) - L'ensemble des oses 76
2°) - Le mannoheptulose 78

b) - Les glucides hydrolysables : les osides solubles 79

Discussion - Conclusion 81

CHAPITRE V - LES EFFETS D'UN SOL CALCAIRE SUR LE METABOLISME INTERMEDIAIRE DU LUPINUS ALBUS 83

A - L'acidité organique totale 83

1 - Les cotylédons 86
2 - Les limbes et les tiges 86
3 - Les racines 86

B - Les rapports : $\frac{\text{acides organiques}}{\text{cations minéraux}}$ 87

C - Les divers acides organiques 93

1 - L'acide citrique 95
a) - Les cotylédons 95
b) - Les limbes et les tiges 95
c) - Les racines 98

2 - L'acide malique 98
a) - Les cotylédons 98
b) - Les limbes et les tiges 101
c) - Les racines 101

3 - L'acide malonique 101
a) - Les cotylédons 101
b) - Les limbes et les tiges 104
c) - Les racines 104

4 - Les acides shikimique et quinique 104

D - Les acides aminés libres 105

1 - Les acides aminés libres des limbes 105
2 - Les acides aminés libres des racines 105

Discussion
CONCLUSION DE LA DEUXIEME PARTIE 111

CONCLUSIONS GENERALES 120
BIBLIOGRAPHIE 125